

N° D'ORDRE :

34

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

MENTION SCIENCES

PAR

Marc CHAPHEAU

Pharmacien-chimiste de la Marine,
Préparateur à l'École pratique des Hautes-Études.

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LE MÉTABOLISME CELLULAIRE DE QUELQUES INVERTÉBRÉS MARINS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 3 juin 1932 devant la Commission d'examen.

JURY :

<i>Président.....</i>	MM. RICHARD, professeur.
<i>Examineurs... }</i>	KIRRMANN, professeur.
	GENEVOIS, maître de conférences.

BORDEAUX

IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET

3, PLACE SAINT-CHRISTOLY, 3

1932

N° D'ORDRE :

34

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

MENTION SCIENCES

PAR

Marc CHAPHEAU

Pharmacien-chimiste de la Marine,
Préparateur à l'École pratique des Hautes-Études.

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LE MÉTABOLISME CELLULAIRE DE QUELQUES INVERTÉBRÉS MARINS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 3 juin 1932 devant la Commission d'examen.

JURY :

Président..... MM. RICHARD, professeur.

Examineurs... } KIRRMANN, professeur.

GENEVOIS, maître de conférences.

BORDEAUX

IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET

3, PLACE SAINT-CHRISTOLY, 3

1932



UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

<i>Doyen...</i>	DUPONT	Chimie industrielle.
<i>Doyens honoraires...</i>	PADÉ	Recteur de l'Académie de Dijon.
	PICART ..	Astronomie.
	COUSIN	Calcul infinitésimal. Analyse supérieure.
<i>Professeurs honoraires...</i>	BÉNARD .	
	VÈZES .	
	VIGOUROUX .	
	SAUVAGEAU .	
<i>Professeurs...</i>	COUSIN	Calcul infinitésimal. Analyse supérieure.
	N	Botanique.
	PICART	Astronomie.
	DEVAUX	Physiologie végétale.
	GUINCHANT .	Physique générale.
	RICHARD ...	Chimie organique.
	DUPONT	Chimie industrielle.
	CHAIINE	Anatomie comparée et Embryogénie.
	BOUNHIOL ...	Zoologie et Physiologie animale.
	TROUSSET ...	Mécanique rationnelle.
	MERCIER	Physique expérimentale.
	DAGUIN	Géologie et Minéralogie.
	DAURE	Physique.
	KIRRMANN ..	Chimie minérale et Chimie physique.
	FEYTAUD	Zoologie.
<i>Maîtres de conférences.</i>	GENEVOIS ...	Chimie physiologique.
	TRUCHET ...	Chimie.
<i>Maîtres de conf. adjoints</i>	ARRIVAUT .	
	GARD .	
<i>Secrétaire</i> ...	ARTIGUELONG .	

PREMIÈRE THÈSE

**Recherches sur le métabolisme cellulaire
de quelques invertébrés marins.**

AVANT-PROPOS

Avant de commencer ce travail, il nous est particulièrement agréable de nous tourner vers ceux qui l'ont conçu et qui en ont permis la réalisation : nous avons nommé MM. L. GENEVOIS et R. SIGALAS.

Maître de conférences à la Faculté des Sciences de Bordeaux, M. L. GENEVOIS a guidé au laboratoire nos premiers pas. Il nous initia à diverses techniques, ne ménageant ni son temps, ni sa peine, nous prodiguant maintes fois ses conseils toujours empreints de la même affabilité. Il assura la direction de nos recherches avec la maîtrise que lui confère sa grande expérience.

Préparateur de M. R. SIGALAS, Directeur de la Station biologique d'Arcachon, Professeur agrégé à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux, nous avons connu les effets de sa bienveillance de tous les instants. Dans nos études universitaires, son affectueuse sollicitude ne s'est pas bornée à nous tracer un plan d'action, elle a placé sur notre chemin les moyens de le suivre.

RECHERCHES

SUR LE

MÉTABOLISME CELLULAIRE

DE QUEQUES INVERTÉBRÉS MARINS

CHAPITRE PREMIER

POSITION DU SUJET

- § 1. — Introduction.
- § 2. — Connaissances acquises sur le métabolisme des Invertébrés.
- § 3. — Travaux personnels antérieurs.
- § 4. — Matériel étudié : l'Huître.

§ 1. — Introduction.

Ceci est une contribution à l'étude de la physiologie cellulaire des Invertébrés marins, principalement de l'Huître.

La physiologie cellulaire a été fondée par O. WARBURG et O. MEYERHOFF entre 1919 et 1930 par des recherches sur les microorganismes et sur les tissus des Vertébrés; ces recherches ont été résumées par L. GENEVOIS dans son opuscule *Métabolisme et fonctions des Cellules*.

L'étude des Invertébrés a été presque complètement négligée; malgré la grande robustesse des cellules de ces êtres primitifs, malgré la plus grande indépendance des tissus vis-à-vis de l'individu, les chercheurs ont délaissé ce do-

maine; ils ont préféré déployer des trésors d'ingéniosité et de patience pour mesurer le métabolisme des cellules de cultures de CARREL, pour arriver d'ailleurs à ce très beau résultat que la cellule des Vertébrés, en culture, garde indéfiniment son caractère embryonnaire de ferment lactique.

Le problème ici posé est le suivant : Dans quelle mesure les réactions productrices de l'énergie de la cellule sont-elles les mêmes chez les Invertébrés et chez les Vertébrés? De quoi dépend l'intensité respiratoire cellulaire? La cellule possède-t-elle une fermentation lactique comme chez les Vertébrés et les Oursins?

Qu'il soit bien entendu que les recherches faites sur les Vertébrés nous ont servi seulement de cadre et de guide; il est légitime de se demander si les mêmes phénomènes ne se retrouvent pas ailleurs; il serait illégitime d'admettre que toutes les cellules fonctionnent de la même façon. Mais il est de bonne méthode scientifique d'essayer avec prudence de généraliser, car il n'y a de science que du général.

L'expérience a répondu que la cellule des Lamellibranches était extraordinairement indifférente à ce que nous considérons comme les aliments essentiels de la cellule des Vertébrés : acides aminés, sucres, lactate, etc. Par contre, les intensités respiratoires sont, compte tenu de la température, du même ordre de grandeur; elles sont de plus une fonction décroissante de l'âge. La cellule semble posséder, en anaérobiose, une certaine fermentation lactique, mais faible, et dont l'intensité décroît avec l'âge.

Ces résultats ne nous permettent pas encore des conclusions bien générales : le mécanisme par lequel ces cellules s'alimentent, les molécules qu'elles brûlent pour assurer leur respiration, sont encore inconnus. Le rôle de la fermentation lactique ne paraît pas clair; il faudrait étudier, par des méthodes purement chimiques, le métabolisme des glucides et des substances azotées dans les cellules de ces Lamellibranches.

Nous nous sommes borné à rassembler un assez grand nombre d'expériences concernant l'intensité respiratoire et

l'intensité de fermentation des tissus. Chacun des phénomènes a été étudié par deux méthodes complètement indépendantes : la respiration par la méthode manométrique de O. WARBURG et la méthode de dosage de l'oxygène dissous de NICLOUX, la fermentation par dosage manométrique du CO_2 dégagé et dosage chimique de l'acide lactique produit.

Si incomplets que soient ces résultats, ils forment cependant un ensemble expérimental bien délimité; nous possédions bien peu de données sur le métabolisme cellulaire des Invertébrés; nous n'avions aucune mesure sur le métabolisme, ni aérobie, ni anaérobie, des tissus des Mollusques. Le sujet était à peu près neuf; il a fallu le débrouiller. Il serait facile de faire des mesures sur d'autres espèces de Mollusques, mais ce sera long et sans doute peu instructif. Il faudra reprendre en détail la chimie du métabolisme, ce qui exigera des méthodes nouvelles et des loisirs que nous n'avions pas. Les résultats présentés ici ont été acquis en quatre étés au laboratoire de la Station d'Arcachon, de 1928 à 1931. C'est dans ce laboratoire què JOLYET, élève de Claude BERNARD et de Paul BERT, a fait, avec REGNARD, les premières mesures correctes sur la respiration des Poissons et des Invertébrés en 1878. Puissent les travaux publiés ici ne pas paraître trop indignes après ceux des fondateurs de la physiologie générale.

§ 2. — Connaissances acquises sur le métabolisme des Invertébrés.

L'ensemble de la question a été esquissé par GENEVOIS, dans *Métabolisme et fonctions des cellules*. Je me limiterai ici à décrire trois cas, qui ont orienté mes recherches : Vers de terre, œufs d'Oursins, tissus de Mollusques.

Les tissus des Vers de terre (*Lumbricus terrestris*) ont été très bien étudiés par J.-C. DAVIS et W.-K. SLATER en 1928 [12] : il y a fermentation lactique en anaérobiose, dans l'air respiration et réaction de PASTEUR-MEYERHOFF; l'intensité de fermentation décroît avec l'âge des tissus plus rapidement que l'intensité respiratoire, tout comme chez les Vertébrés.

L'œuf d'Oursins (*Arbacia punctulata*) présente de même en anaérobiose une fermentation lactique aux dépens de son glycogène propre (PERLZWEIG et BARRON [33]); en présence d'air subsisterait une petite fermentation lactique. Après la fécondation, l'intensité de la fermentation lactique augmente. D'après RAPKINE [35], cette augmentation se ferait sentir surtout quarante minutes après la fécondation. ASHBEL [1], RUNNSTRÖM [36] l'ont mesurée de diverses manières. RUNNSTRÖM [38] a publié en 1930 une longue étude de la respiration de l'œuf d'Oursin : l'oxyde de carbone inhibe la respiration de l'œuf fécondé, mais non de l'œuf vierge; le bleu de méthylène augmente la respiration de l'œuf vierge, mais non celle de l'œuf fécondé. Tout se passe comme si le ferment respiratoire de l'œuf vierge était non saturé en substrat, tandis que le ferment se trouverait saturé de substrat et fonctionnerait au maximum dans l'œuf fécondé.

Nous avons beaucoup moins de données sur les Mollusques : sur le métabolisme cellulaire proprement dit, nous n'avons que quelques chiffres de MEYERHOF et SCHULZE (1929) [27] sur le métabolisme des nerfs de Eledone, Octopus, Aplysia : il y a respiration dans l'air, fermentation lactique dans l'azote, les valeurs absolues du métabolisme de repos étant dix fois plus grandes que pour les tissus homologues de la Grenouille. P. H. FISCHER [15] a étudié très consciencieusement la respiration de l'Escargot (*Helix Pomatia*), dans quelques expériences, il a même déterminé, sous le nom de « respiration dans l'azote », la quantité de CO_2 émise dans l'azote, qui est un peu plus faible, mais du même ordre que le CO_2 émis par la respiration vraie dans l'air. H. BOUXIN [4] a étudié les variations d'intensité respiratoire de la Moule (*Mytilus edulis*) sur des individus isolés en fonction de la salinité du milieu : entre d'assez larges limites (addition de 30 p. 100 d'eau douce, ou de 5 p. 100 d'eau de mer réduite à 50 p. 100 de son volume) il n'y a pas de variation appréciable de la consommation en oxygène. BRUCE [5] a fourni des données relatives à un grand nombre d'individus.

Tous ces travaux permettaient de supposer que les tissus des Mollusques présentent une respiration et une fermenta-

tion lactique analogues à celles des Vertébrés. C'est ce que les expériences décrites ci-dessous ont vérifié.

§ 3. — Travaux personnels antérieurs.

Dans des travaux antérieurs (1928-1929-1930), nous avons cherché à avoir une idée du métabolisme cellulaire des Invertébrés, en nous servant des hématies contenues dans le liquide de la cavité générale des Siponcles.

Ces cellules étaient choisies en raison de la commodité de leur extraction et de leur manipulation. Au point de vue physiologique, ce matériel est assez médiocre, parce que les valeurs absolues du métabolisme sont faibles. Quoi qu'il en soit, voici les résultats obtenus :

Ces cellules nucléées ont une respiration propre, faible, mais bien constante, de l'ordre de 0,20 à 0,40 mmc. de O₂ par milligramme sec et par heure. Cette respiration est alimentée essentiellement par les matières de réserve de la cellule; l'addition au milieu de glucose, glyocolle, lactate de sodium, n'augmente point l'intensité respiratoire; la substitution de l'eau de mer au sérum n'entraîne aucune variation. Par contre, si on laisse les animaux jeûner plusieurs jours à 20°, l'intensité respiratoire cellulaire baisse notablement (de 20 à 40 p. 100), sans qu'on puisse l'augmenter par addition de sucres ou d'acides aminés. Le mécanisme par lequel les cellules s'assimilent les aliments est donc bien différent du mécanisme présenté par les cellules connues comme vivant dans un milieu riche en glucides : levures, muscle, foie des Vertébrés. L'intensité respiratoire de ces cellules est augmentée par addition de sucre ou de lactate, surtout si on laisse « jeûner » la cellule. Les variations sont de l'ordre de 50 p. 100 pour les cellules des Vertébrés; les lactates augmentent même de 100 p. 100 l'intensité respiratoire de la cellule musculaire (O. MEYERHOF, 1930) dans le muscle intact.

L'intensité respiratoire des cellules d'algues de champignons et des Vertébrés se trouve être au premier chef une fonction de la nature chimique du milieu; celle de la cellule

des Invertébrés semble indépendante du milieu. Nous retrouverons sur les Huîtres les caractères découverts chez les hématies du Siponcle; ces caractères paraissent ainsi avoir une certaine généralité chez les Invertébrés marins.

La valeur absolue de l'intensité respiratoire des hématies du Siponcle remarquablement faible, coïncide, compte tenu de la température, avec les valeurs données par les globules rouges des Oiseaux, qui sont également des cellules nucléées alors que les globules rouges des Mammifères ont une intensité respiratoire normalement négligeable. Mais les globules rouges des Vertébrés ont un « pouvoir glycolytique », c'est-à-dire une fermentation lactique non négligeable. L'expérience nous a montré que la fermentation propre, mesurée par le CO_2 déplacé par les acides fixes formés par les cellules en anaérobiose, a, chez les hématies du Siponcle, une valeur faible, qui en rend l'étude expérimentale très difficile. Cette faiblesse de la fermentation propre est une des raisons qui nous ont fait prendre comme nouveau sujet d'étude les tissus de l'Huître.

La commodité d'étude de la respiration des hématies du Siponcle nous a fait adopter ce matériel pour une étude biochimique des corps excitants de la respiration. En effet, si l'intensité respiratoire de ces cellules ne varie pas sous l'action de molécules qu'on s'attendrait à voir jouer le rôle d'aliments des combustions cellulaires, elle varie sous l'action catalytique d'un certain nombre de corps connus en physiologie générale comme hyperthermisants et excitants de la respiration cellulaire.

Voici les lois empiriquement reconnues du phénomène :

1° Seules des substances basiques, électropositives, peuvent pénétrer dans la cellule des hématies du Siponcle, la colorer, la teindre et exciter sa respiration;

2° Parmi les substances capables ainsi d'envahir la cellule, seules les substances susceptibles d'être réduites par les hexoses, glucose ou lévulose, peuvent exciter la respiration;

3° Tous les colorants électronégatifs, acides, quel que soit leur rH , c'est-à-dire leur pouvoir d'être réduit, sont dans

l'impossibilité d'agir sur la respiration; les nitronaphtols hyperthermisants, bien connus chez les Vertébrés, sont dans ce cas.

Les colorants basiques du groupe du bleu de méthylène, étudiés par WURMSER et ses collaborateurs, sont très actifs sur la respiration, dans la mesure où leur rH leur permet d'être réduits par les hexoses; la comparaison du bleu de Nil et du violet de crésyle, dont les courbes de potentiel d'oxydo-réduction se coupent aux environs de la neutralité, est très intéressante à cet égard. Le bleu de Nil est actif sur la respiration, le violet de crésyle très peu. Le bleu de Nil a un rH supérieur au violet de crésyle à pH : 7, mais l'inverse se produit à pH : 8, tandis que le potentiel apparent du glucose se place entre les deux. Le phénomène d'excitation de la respiration se passerait à l'intérieur de la cellule pour un pH bien inférieur à celui de l'eau de mer (8,2).

L'histoire des dinitronaphtols est non moins instructive : ces hyperthermisants, étudiés par HEYMANNS et ses élèves chez les Vertébrés à sang chaud, sont sans action sur la respiration des hématies; si on les réduit partiellement par une solution étendue de glucose à chaud, ils deviennent aussi actifs que le bleu de méthylène. Inactifs sous la forme de dinitronaphtols, ils deviennent actifs sous la forme d'aminonitronaphtols sans doute.

§ 4. — Matériel étudié : l'Huître.

Toutes les expériences qui font l'objet de ce travail ont porté sur les tissus des Huîtres.

Qu'il s'agisse d'Huîtres portugaises ou d'Huîtres plates, ces Mollusques, à tous les stades de leur développement, constituent le matériel qui, dans le Bassin d'Arcachon, est le plus facile à se procurer.

Le premier point qui nous a paru indispensable de déterminer a été l'importance des conditions de prélèvement.

L'Huître sortant du parc et l'Huître ayant vécu deux ou trois jours, n'ayant à sa disposition que son eau interval-

vaire, se sont montrées absolument identiques. Il n'est pas possible de distinguer, dans l'étude des échanges gazeux de leurs tissus, une seule différence.

Le Bassin d'Arcachon reçoit des eaux douces; à l'embouchure de la Leyre, les parcs à Huîtres sont quelquefois baignés par une eau dont la salinité est notablement abaissée. Les Mollusques réagissent à cette variation en sels de l'eau et nous nous sommes aperçu que les résultats des mesures de métabolisme cellulaire se trouvaient modifiés. Nous reviendrons plus loin sur ce sujet quand il sera question de l'influence de la salinité sur la respiration des tissus de l'Huître. Il faut donc, lors du prélèvement, tenir compte de ce facteur.

Chaque fois qu'une Huître présente des tissus chargés de substances conjonctives qui lui donnent l'aspect d'être « grasse », les déterminations de l'intensité respiratoire de ses tissus se traduisent toujours par des chiffres faibles quand on les compare à ceux que donne une Huître normale. Cette faiblesse de la respiration, comme nous le verrons, semble venir de ce que les masses conjonctives qui accompagnent les tissus étudiés ne s'oxydent pas au cours de la respiration et entrent en jeu cependant dans le calcul du poids sec des cellules.

L'Huître vit parfaitement dans des bassins alimentés par une eau bien aérée. Rien n'est plus commode, pour toute une série de manipulations, que d'avoir sous la main un grand nombre d'individus de même taille; ceci facilite en particulier la répartition des tissus en lots ayant sensiblement le même poids.

Nous nous sommes servi, pour conserver le matériel nécessaire à plusieurs déterminations, des bassins que possède la Station dans ses laboratoires. Ces réservoirs, de grande capacité, aménagés pour recevoir des Huîtres, sont susceptibles, le cas échéant, d'être maintenus à une température constante; l'eau qu'ils renferment peut être aérée à volonté.

Ce mode de conservation est loin d'être indispensable et les expériences seraient non moins comparables si l'on pratiquait autrement. En effet, l'Huître, comme nous le ver-

rons bientôt, est un Invertébré dont les tissus semblent très résistants. Bien souvent, si l'on vient à faire varier même très largement ses conditions naturelles de vie, l'équilibre physiologique de ses éléments cellulaires ne varie pas, ou dans des proportions si faibles que la précision des mesures ne permet pas de le constater nettement.

CHAPITRE II

RESPIRATION. — SA MESURE

I. — *Méthode manométrique.*

- § 1. — Technique des mesures.
- § 2. — Préparation des tissus.
- § 3. — Mesures.
- § 4. — Détermination du poids sec.
- § 5. — Résultats. Influence de la fragmentation.
- § 6. — Erreurs des mesures.

II. — *Mesure de la respiration par dosages d'oxygène dissous dans l'eau de mer.*

- § 1. — Principe du dosage.
- § 2. — Dosage :
 - a) Appareil de dosage;
 - b) Récipient de respiration;
 - c) Manipulation.

III. — *Résultats.*

Comparaison des résultats donnés par les deux méthodes.

I. — METHODE MANOMETRIQUE

§ 1. — Technique des mesures.

La détermination de la quantité d'oxygène consommé par les différents tissus de l'Huitre a été faite à l'aide de la méthode manométrique de O. WARBURG. Cette méthode a déjà été décrite complètement à plusieurs reprises (O. WARBURG, 1928; E. AUREL et L. GENEVOIS, 1929). Sans vouloir entrer dans le détail de l'appareil et de son fonctionnement, rappelons cependant son principe :

Les tissus dont on veut étudier les échanges gazeux sont placés dans de petits récipients de faible volume (20 cc. envi-

ron), pourvus d'un godet central et d'une ampoule latérale. Chacun d'eux est relié à un manomètre et constitue un système complètement clos. Grâce à un robinet, on peut toutefois, à volonté, mettre le récipient et son manomètre en communication avec un milieu gazeux (air, oxygène...).

Nous voulons mesurer le volume d'oxygène qui disparaît au cours de la respiration d'un tissu. Pour cela, plaçons ce dernier dans un récipient avec un peu d'eau de mer de façon qu'il baigne. Dans le godet central, nous faisons couler quelques gouttes d'une solution de soude. Dès lors, si l'ensemble formé par le récipient et son manomètre est clos, le gaz carbonique dégagé au cours de la respiration sera absorbé au fur et à mesure de sa formation.

La diminution de pression qu'accuse le manomètre sera due à la disparition de l'oxygène que le tissu emprunte au volume gazeux.

L'ampoule latérale dont est muni chaque récipient a l'avantage de permettre de faire varier les conditions d'expériences. Au cours de la manipulation, on peut en effet, en versant le contenu de l'ampoule dans le récipient lui-même, introduire diverses substances. Cette façon d'opérer est très intéressante pour plusieurs raisons. Tout d'abord, elle permet d'étudier l'influence d'un corps *in extenso*.

De plus, comme les échantillons étudiés présentent, si on les compare, des variations susceptibles d'être assez fortes, il est bien difficile quelquefois d'interpréter un résultat. Aussi, en ajoutant le produit étudié seulement au cours de la manipulation, on se met dans les meilleures conditions possibles pour avoir une idée exacte de l'allure du phénomène.

Pour que ces mesures manométriques soient valables, il faut, bien entendu, que les appareils soient placés à l'abri des écarts de température. Les récipients sont, pour cette raison, agités dans un thermostat. Ce dernier a été réglé pour toutes les expériences à la température de 27°5.

L'agitation a aussi pour but de maintenir l'équilibre entre les tissus, le liquide qui les baigne et l'atmosphère qui les surmonte. Afin de corriger les erreurs dues aux légères varia-

tions de température, on place à côté des récipients en étude un récipient témoin dont les indications fournissent les corrections à faire. Ces corrections doivent être les plus faibles possibles, car les variations de volume que l'on mesure ne sont pas très grandes.

Ces chiffres donnés comme intensité respiratoire (I_0^2) représentent les millimètres cubes d'oxygène ramenés à 0° et à 760 mm. de Hg consommés par milligramme de tissu et par heure.

§ 2. — Préparation des tissus.

L'Huître est ouverte le plus délicatement possible en rompant la charnière unissant les deux valves. Le muscle adducteur est sectionné en rasant la coquille aux deux points d'insertion. Ainsi libre, le corps du Mollusque est placé dans une cuvette à dissection renfermant de l'eau de mer.

Il est alors facile d'isoler le manteau, les branchies et le muscle. Mais pour séparer très proprement l'hépatopancréas, l'opération est plus délicate. Il est cependant nécessaire, pour que les mesures soient suffisamment rigoureuses, d'avoir un tissu aussi peu souillé que possible d'éléments étrangers.

Sans prétendre à un isolement parfait de l'hépatopancréas, on peut, à l'aide d'une pince et d'un petit scalpel, détacher des fragments de tissu. Mais ce souci de ne prendre que des constituants purs de l'hépatopancréas oblige nécessairement à laisser de côté une bonne partie de l'organe. Ce dernier n'étant pas très volumineux, on obtiendra une masse trop faible pour expérimenter.

Afin de ne pas courir le risque de voir l'expérience entachée d'erreurs dues à l'introduction de débris d'autres organes, on disséquera plusieurs individus et on fera un échantillon moyen.

D'ailleurs, cette manière d'opérer est nécessaire dans la plupart des cas. Que l'on s'adresse au manteau, à la branchie ou au muscle, chaque fois qu'il s'agira d'étudier leur comportement sous l'influence d'un même ou de plusieurs agents, cette méthode sera utilisée.

§ 3. — Mesures.

Au cours de la dissection, les tissus sont déposés dans des verres de montre et recouverts d'eau de mer. Il n'y a plus qu'à les introduire dans les récipients.

Mais ici une considération s'impose : la méthode manométrique qui nous a servi pour ces mesures n'admet d'exactitude que si les cellules sont à chaque instant pourvues à saturation d'oxygène et en équilibre avec l'atmosphère du récipient. Donc, pour que cette condition soit réalisée, la masse de tissu qui sera utilisée pour chaque détermination d'échanges gazeux ne devra pas être très grande. Par une série d'expériences préliminaires, nous avons cherché pour chaque tissu la masse la plus convenable à employer.

En exprimant en milligrammes, comptés à l'état sec, le poids optimum de tissu à prélever pour la mesure des consommations en oxygène, voici les quantités qui ont servi de bases :

- Manteau, 100 mg.;
- Branchie, 80 mg.;
- Muscle, 120 mg.;
- Hépatopancréas, 60 mg.

Avec un peu d'habitude, on arrive rapidement à se tenir aux environs de ces chiffres.

Les tissus sont déposés dans les récipients et baignent dans 2 cc. d'eau de mer. On place alors les appareils dans le thermostat et on maintient l'agitation pendant quelques instants sans fermer les robinets. Quand l'équilibre de température est atteint, on ferme les robinets, et on mesure les absorptions d'oxygène à intervalles variables, d'autant plus souvent que le phénomène est plus intense. Nous avons fait les lectures de dénivellations dans les manomètres, toutes les vingt minutes et, le plus souvent, toutes les trente minutes.

§ 4. — Détermination du poids sec.

La manipulation terminée, il faut prendre les poids secs du contenu de chaque récipient. Mais l'eau de mer renferme

environ 35 milligrammes de sels par centimètre cube et un lot de tissu n'est pas obligatoirement dans le même état d'imbibition que le lot voisin. Si donc on plaçait directement les tissus sur des verres de montre à l'étuve, il est à peu près sûr que l'on aurait des erreurs. Ces erreurs amèneraient des variations considérables dans le calcul de l'intensité respiratoire, car les poids secs que l'on détermine ne sont pas très élevés. Pour éviter cela, les tissus seront séchés sur du papier buvard ou mieux passés rapidement dans un filet d'eau douce. La durée de la dessiccation à l'étuve (100-110°) est d'environ une heure et demie. Quand le poids sec est devenu constant, on pèse aussitôt. Il faut, en effet, effectuer rapidement la pesée, car l'hygroscopicité de la masse sèche des tissus amènerait de nouvelles causes d'erreurs.

§ 5. — Résultats. Influence de la fragmentation des tissus.

Avant de donner un seul résultat, il convient cependant de préciser les conditions dans lesquelles furent effectuées les mesures. En effet, les premières expériences faites pour déterminer la valeur de l'intensité respiratoire des tissus de l'huître (expériences signalées dans le *Bulletin de la Station biologique d'Arcachon*, t. 27, 1930) portaient, comme nous l'avons mentionné, sur des tissus coupés. Donc la première série de chiffres qui a servi à l'établissement du tableau I a été obtenue sur des échantillons fragmentés au ciseau.

TABLEAU I
Intensités respiratoires des tissus d'huîtres portugaises
(Tissus fragmentés).
I₀ à T : 27°5.

DATES	MANTEAU	BRANCHIE	MUSCLE	H. PANCRÉAS
27 avril 1930	1,05	2,56	0,25	2,45
27 septembre 1930....	1,13	2,00	0,31	1,91
1 ^{er} octobre 1929	0,76	1,68	0,27	1,49
6 octobre 1930.....	0,96	1,72	0,23	2,33
16 octobre 1931.....	1,01	1,78	0,30	1,50
20 août 1931.....	0,90	1,78	0,21	1,81
7 novembre 1931.....	1,09	1,80	0,24	2,25
10 novembre 1931	0,97	1,60	0,29	2,00

De cet ensemble de résultats, on peut déjà conclure que, pour chaque tissu, les consommations en oxygène présentent, d'une expérience à l'autre, une concordance très acceptable.

Que se passe-t-il si l'on vient à couper les tissus de plus en plus finement? L'expérience montre que l'on se heurte assez rapidement à une grosse difficulté. En effet, lorsqu'on augmente le degré de division des tissus, il arrive un moment où les morceaux s'agglutinent par l'agitation, de sorte que l'on a affaire à un paquet de tissu qui se colle aux parois des récipients et ne s'en détache que difficilement. Dans ces conditions, la précision des mesures n'existe plus du tout.

En diminuant la quantité de tissu par récipient, on pourrait essayer de se rapprocher de la suspension de cellules. Ici encore se présentent deux inconvénients : il n'y a plus assez de cellules par récipient pour faire une détermination très correcte. De plus, les particules de tissu en suspension se trouvent, par le mouvement de va-et-vient de l'agitation, déposées sur les parois et, pendant tout le reste de la manipulation, se maintiennent ainsi hors des conditions requises pour assurer des échanges gazeux convenables.

L'expérience montre corrélativement que les intensités respiratoires déterminées sur des échantillons sectionnés restent les mêmes tant qu'il n'y a pas agglomération du tissu; de l'amas qui se produit, on ne peut, en effet, envisager aucune diffusion normale des gaz. Cependant le fait même que, dans les limites permises par les mesures, la fragmentation n'apporte aucune modification de la consommation en oxygène nous permet de penser que les tissus reçoivent une quantité d'oxygène suffisante pour les oxydations cellulaires. Nous reviendrons sur ce point dans un instant avec plus de détails.

Il était assez naturel, après avoir étudié le comportement de tissus coupés, de chercher à savoir ce qui se passait pour les tissus tels que les fournit la dissection. Il faut ici distinguer deux cas : celui de la branchie, manteau et foie et celui du muscle. En ce qui concerne le premier groupe d'organes, l'hépatopancréas est un peu à part. Nous avons vu, en effet,

que son isolement nécessitait sa présentation en débris. Pour la branchie et le manteau, on se rend compte que, fragmentés ou non, la respiration reste la même. Les différences que les résultats présentent sont du même ordre que les variations observées sur deux échantillons d'une expérience à une autre. Donc, normalement, le manteau et la branchie sont perméables aux gaz d'une façon tout à fait satisfaisante pour que les mesures soient conformes au principe de la méthode manométrique.

Le muscle a des dimensions qui ne lui permettent pas de se comporter ainsi. Son épaisseur est trop considérable pour qu'il soit perméable aux gaz complètement. C'est ainsi que l'expérience montre qu'un muscle entier consomme moins d'oxygène qu'un muscle coupé en petits cubes d'environ 2 millimètres de côté. D'ailleurs, avec un muscle entier, au début de la mesure, il est difficile d'obtenir l'équilibre gazeux, les résultats de respiration sont toujours assez faibles.

TABLEAU II
Intensités respiratoires des tissus d'Huitres portugaises
(Tissus non fragmentés).

10° à T : 27°5.

DATES	MANTEAU	BRANCHIE	MUSCLE
8 août 1931.....	0,89	1,90	0,20
8 août 1931.....	0,94	1,70	0,11
12 août 1931.....	0,78	1,75	0,13
13 août 1931.....	1,00	2,25	0,17
21 septembre 1931.....	0,92	1,80	0,10
21 septembre 1931.....	0,70	1,40	0,17
10 décembre 1931.....	1,04	1,56	0,21

Il est facile de voir par le tableau II que les chiffres obtenus avec des tissus non coupés sont normaux dans le cas des branchies et du manteau et inférieurs aux valeurs du tableau I pour le muscle. Plusieurs séries de mesures exécutées, en notant avec soin les conditions dans lesquelles chacune

s'effectuait, ont montré que les chiffres forts de même que les faibles étaient toujours trouvés lorsque les masses de tissus s'écartaient des concentrations données.

Le tableau I, qui fournit les résultats valables des expériences, montre pour chaque tissu une concordance assez bonne, surtout quand on considère les nombreuses causes d'erreurs. C'est pourquoi il faut s'en tenir aux valeurs les plus fréquentes, qui sont les suivantes :

Manteau	$Io^2 = 0,96$
Branchie	$Io^2 = 1,72$
Muscle	$Io^2 = 0,25$
Hépatopancréas	$Io^2 = 1,95$

Sensiblement on peut donc ranger par leurs intensités respiratoires ces tissus de l'Huître dans le même ordre que les tissus des Vertébrés. L'hépatopancréas vient en tête et si quelques Io^2 le concernant viennent à donner des valeurs faibles — comme 1,50 par exemple — cette anomalie doit être rejetée sur le compte des particules de tissu conjonctif. Ces dernières, mêlées à l'hépatopancréas, déterminent un poids sec trop élevé et un affaiblissement du quotient :

$$\frac{mm^3O^2}{\text{Heure} \times mg. \text{ sec.}}$$

Les branchies, manteau et muscle sont normalement comme les tissus conjonctifs et musculaires après le foie, leur métabolisme étant moindre.

En conclusion, si paradoxal que le phénomène puisse paraître, il y a donc relativement peu d'écart entre les tissus des Vertébrés et les tissus d'Invertébrés au point de vue de l'intensité de consommation d'oxygène. En effet, les intensités — considérées dans leurs valeurs absolues — que nous trouvons sur les Huîtres, même en tenant compte d'une température de 10° plus basse, sont plus faibles que dans le cas des Vertébrés dans la proportion approximative de 1 à 2.

§ 6. — Erreurs des mesures.

Les différentes erreurs susceptibles de venir entacher les déterminations sont par ordre d'importance décroissante :

Erreur due à la répartition inégale des tissus par récipient. Elle risque d'être la plus forte (20 p. 100); aussi, il faut s'en tenir, avec le plus de rigueur possible à des masses déterminées de tissus;

Erreur causée par la présence d'eau de mer humectant les tissus; elle prend une valeur assez minime, toutes les pesées étant faites dans les conditions les plus identiques que l'on puisse réaliser;

Erreur de lecture des dénivellations manométriques;

Erreur de pesée.

Il faut noter aussi que quelquefois lorsque l'expérience vient à se prolonger, on remarque, vers la fin de la mesure, que Io^2 prend des valeurs anormales faisant supposer une erreur par excès. Cette erreur est déterminée par la présence de bactéries dont le métabolisme vient s'ajouter à celui des tissus. Pour ces raisons, les chiffres donnés comme valables sont ceux qui représentent la respiration dans les premières heures de la manipulation.

Le matériel qui nous a servi est loin d'être aussi facile à manipuler que les suspensions cellulaires. Les chiffres n'ont pas la régularité de ceux que l'on obtient avec les hématies du Siponcle. C'est pourquoi nous insistons encore pour dire qu'un lot témoin n'a pas toujours grande signification. Pour vérifier l'action d'un corps, il faut mesurer le coefficient Io^2 avant et après son addition. Pour les cas où l'étude que l'on se propose ne peut se faire dans ces conditions, il faut pratiquer un grand nombre d'expériences et comparer les valeurs les plus fréquentes.

II. — MESURE DE LA RESPIRATION PAR DOSAGE D'OXYGENE DISSOUS DANS L'EAU DE MER

Il est possible de doser, avec une très grande précision, l'oxygène dissous dans l'eau de mer par la méthode de M. NICLOUX.

Nous avons pensé que nous pourrions utiliser cette technique pour étudier la respiration de tissus plongés un certain temps dans un volume connu d'eau de mer. D'ailleurs,

cette méthode a déjà été employée pour déterminer la quantité d'oxygène absorbée par un animal vivant dans un récipient complètement rempli d'eau. C'est ainsi que H. BOUXIN, étudiant l'influence des variations rapides de la salinité chez *Mytilus edulis*, considère comme test de réaction physiologique des animaux leur consommation d'oxygène.

§ 1. — Principe du dosage.

L'eau de mer à analyser est alcalinisée par une solution de potasse iodurée; on y ajoute ensuite un sel manganoux, chlorure ou sulfate. Dans ces conditions, il précipite de l'hydrate manganoux. Mais l'oxygène dissous dans l'eau oxyde cet hydrate pour donner un hydrate manganique. En ajoutant un acide à la liqueur, l'oxyde manganique libère une certaine quantité d'iode de l'iodure de potassium. Il ne reste plus qu'à doser l'iode libre.

§ 2. — Dosage.

a) APPAREIL DE DOSAGE.

Pour ce dosage, NICLOUX utilise et préconise l'emploi d'un tube spécial dont il donne la description détaillée dans son mémoire. Mais cet auteur fait remarquer que l'on peut se servir, sans introduire de gros inconvénients, d'un simple tube droit. C'est à ce dernier genre d'appareil que nous avons eu recours. Nous avons pris un tube à essai T renfermant deux billes de verre et un autre petit tube *t*; ce dernier porte un étranglement qui peut être obturé par une troisième bille. Le tube T peut être fermé grâce à un bouchon de caoutchouc percé d'un seul trou, traversé par un tube semi-capillaire qui est disposé un peu en retrait de la partie inférieure du bouchon comme le fait remarquer NICLOUX, pour ne pas emprisonner d'air dans l'appareil. Le bouchon affleure un trait de jauge marqué sur le tube T. Notre tube, contenant les trois billes de verre et le petit tube étranglé *t*, a été jaugé conformément aux indications de NICLOUX. Son volume était de 40 cc.

Dans ces conditions, les quantités de réactifs à employer étaient :

Potasse iodurée	0 cc. 6
SO ⁴ Mn	0 cc. 4 (1)

(Le volume de la partie inférieure de notre tube étranglé *t* était de 0 cc. 4.)

b) RÉCIPIENT DE RESPIRATION.

Le récipient R qui nous a servi pour mettre les tissus à respirer est de la forme indiquée par la figure 2. La partie supérieure est fermée par un bouchon percé d'un trou traversé par un tube très fin. Ce tube est disposé comme celui de l'appareil de la figure 1. Un tube de caoutchouc y est

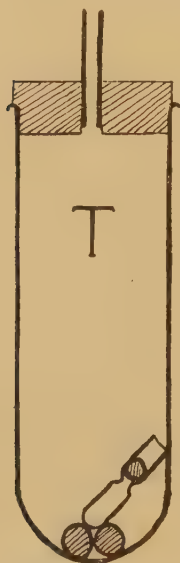


FIG. 1

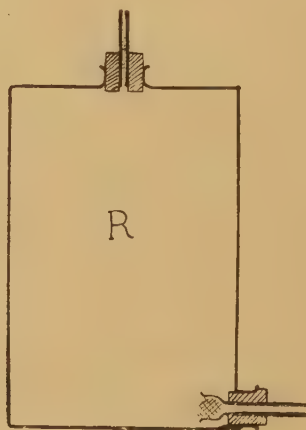


FIG. 2

(1) Formule des réactifs :

Potasse	20 g.	SO ⁴ Mn anhydre ...	30 g.
IK	10 g.		
Eau..... q. s. p.	100 cc.	Eau..... q. s. p.	100 cc.

adapté et peut être serré par une pince. La tubulure inférieure porte aussi un bouchon de caoutchouc laissant passer un tube qui, comme le montre le dessin, est d'un côté évasé en entonnoir; ce petit entonnoir reçoit un tampon de coton de verre. De l'autre côté, le tube porte un robinet.

Le volume du récipient a été choisi de manière que les tissus, en un temps variant de une heure et demie à deux heures, n'aient pas consommé plus de la moitié de la quantité d'oxygène dissous dans l'eau. Son jaugeage a donné un volume V (les deux bouchons ont des positions fixées par deux repères sur le flacon).

c) MANIPULATION.

L'eau de mer qui doit servir à baigner les tissus est placée dans un ballon que l'on porte à la température de 27°S , soit par immersion dans le thermostat de l'appareil de WARBURG, soit par un séjour à l'étuve électrique. De temps en temps, cette eau est agitée violemment au contact de l'air. Ainsi les cellules seront environnées tout à l'heure d'une eau saturée d'air à 27°S .

Le récipient R, placé déjà depuis un moment à l'étuve, reçoit les tissus fragmentés. Le volume de ceux-ci est déterminé au préalable par immersion dans une petite éprouvette graduée qui contient un peu d'eau prélevée dans le ballon. Les tissus sont ensuite recouverts de la même eau à 27°S jusqu'à ce que le flacon soit rempli : on met le bouchon et on serre la pince. On place le tout dans le thermostat et, toutes les cinq minutes environ, on agite le récipient en le renversant. Ainsi l'eau se renouvelle au contact des cellules. Au bout d'une heure ou deux, on retire le flacon du thermostat et on le met à l'étuve à 27°S sur un support. On adapte au robinet un tube de caoutchouc muni d'un tube de verre coudé. Ce dernier va plonger dans le fond du tube T qui servira au dosage de l'oxygène dans l'eau. Cet appareil est à l'étuve depuis quelques instants, de façon à être à la même température que l'eau qui le remplira. On ouvre le robinet, on desserre la pince, on laisse seulement couler un

peu d'eau que l'on jette. Puis on remplit le tube T, on introduit jusqu'au fond une pipette effilée contenant de la potasse iodurée et on laisse couler 0 cc. 6 de ce réactif. Le petit tube étranglé *t* reçoit 0 cc. 4 de SO_4Mn ; on met la bille de verre et par-dessus on laisse couler (avec une pipette) quelques gouttes d'eau à analyser, pour le remplir complètement. En l'appliquant sur le bord du tube T, on le laisse glisser jusque dans le fond. On place le bouchon que l'on enfonce jusqu'au trait de jauge. Alors, tenant le tube semi-capillaire fermé par un doigt, on agit par une série de renversements successifs. Au début, il vaut mieux faire quelques renversements lentement. Au fur et à mesure que le sulfate manganoux diffuse au sein du liquide, le précipité floconneux qui se forme est dissocié par le mouvement de va-et-vient des billes et du petit tube. Au bout de sept à huit minutes d'agitation, la réaction est complètement terminée. Alors on passe en milieu acide suivant la technique de NICLOUX avec l'acide orthophosphorique. On effectue le dosage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium N/100.

Soit v cc. le volume du tube T; l'eau qui a servi au dosage a donc occupé un volume qui est égal à (v cc. — 1 cc.) puisqu'on a ajouté 0 cc. 6 de potasse iodurée et 0 cc. 4 de sulfate manganoux. Appelons V cc. le volume du récipient dans lequel ont respiré les cellules; ce volume V diminué du volume des tissus devient V' . Si N est le nombre de centimètres cubes de thiosulfate N/100 employés pour faire disparaître l'iode libre dans la liqueur de dosage, le poids d'oxygène, exprimé en milligrammes, contenu dans l'eau du récipient R est :

$$\frac{N \times 0,08 \times V'}{v - 1} = x.$$

Ce poids représente en centimètres cubes d'oxygène mesurés à 0° et à 760 mm. de Hg un volume de $x \times 0,7$. La différence qui existe entre ce volume et le volume d'oxygène que contenait l'eau avant la respiration constitue en millimètres cubes le numérateur du quotient :

$$\frac{\text{O}_2 \text{ Consommé}}{\text{Heure} \times \text{mg. sec.}}$$

L'eau à analyser renferme des matières organiques. —

Après la respiration des tissus, l'eau renferme une petite quantité de matières organiques. Or, l'iode ne se fixe-t-il pas sur ces substances au cours du dosage? NICLOUX, dans l'exposé de sa méthode, s'est posé cette question. Par une série d'expériences, il est arrivé à conclure que l'absorption de l'iode par la matière organique, même en quantité importante, est peu considérable. Bien que faible, cette absorption n'est pas négligeable et nous avons essayé d'obvier à cette difficulté en opérant comme suit :

Nous avons dosé l'oxygène dans l'eau de respiration. Puis, nous avons agité très fortement plusieurs fois le reste de cette eau, après un séjour de quelques instants à l'étuve, nous avons alors fait le dosage de l'oxygène dissous qui était offert aux tissus lors de leur mise en expérience. L'avantage qu'apporte ce procédé est de permettre de faire les deux dosages d'oxygène sur une liqueur qui renferme la même quantité de matières organiques.

La nature des tissus étudiés importe aussi beaucoup. Pour l'hépatopancréas, nous avons rejeté la méthode; on obtient un liquide très laiteux pour qui ce genre de dosage est très grossier.

III. — *RESULTATS*

Comparaisons des résultats donnés par les deux méthodes.

Les chiffres que nous allons donner se rapportent uniquement, comme l'indique le tableau III, à la branchie et au manteau. On est immédiatement frappé par la différence qu'ils présentent avec ceux que donne la méthode manométrique. Il est évident qu'*a priori* cela peut se prévoir. Les tissus, en effet, sont dans des conditions bien différentes. Dans la méthode de WARBURG, l'agitation permanente en présence d'air offre aux cellules la possibilité de se pourvoir en oxygène d'une façon autrement plus complète que lorsque ces mêmes cellules sont simplement environnées d'eau de mer. Aussi, par ce procédé, nous n'avons pas pensé apporter des résultats pouvant donner la confirmation absolue de nos

premières conclusions. Néanmoins, en tenant compte des divergences de conditions, nous pouvons dire que l'ordre de grandeur des intensités respiratoires déterminées par dosage d'oxygène n'est pas très éloigné de celui que l'on obtient avec les récipients de WARBURG. Nous nous sommes rendu compte, au cours de ces manipulations, qu'il y a intérêt à ne pas trop charger le récipient R en cellules et aussi à employer des volumes d'eau de mer peu considérables. C'est en utilisant ces considérations que nous avons réalisé les expériences résumées dans le tableau III.

TABLEAU III
Intensités respiratoires obtenues par dosages d'oxygène dissous dans l'eau (Huitres portugaises, tissus fragmentés).
 I_0^2 à T : 27°3.

	MANTEAU	BRANCHIES	DATES
Déterminés par dosage d'oxygène dissous...	0,58 0,39 0,49 0,44	1,00 0,92 1,20 0,74	18 novembre 1931. 20 novembre 1931. 20 novembre 1931. 15 décembre 1931.
Méthode de Warburg (Valeurs moyennes)..	0,96	1,72	

La technique de WARBURG nous donne en chiffres ronds des valeurs deux fois plus élevées que la technique empruntant le dosage d'oxygène de NICLOUX. Nous mesurons donc deux grandeurs différentes :

1° La technique de WARBURG donne *l'intensité respiratoire maxima* des cellules saturées d'oxygène en milieu agité. Ces intensités sont les mêmes, nous le verrons plus loin, lorsque l'atmosphère du récipient est de l'air ou de l'oxygène pur : c'est donc une grandeur *physiquement bien définie*. Cette grandeur varie systématiquement avec l'âge et la nature des tissus et avec certaines substances chimiques. Elle est comparable dans toutes les expériences faites de la même façon; les chiffres que nous obtenons à Arcachon sont comparables

à tous les chiffres obtenus par l'école de physiologie cellulaire moderne, résumés par GENEVOIS dans *Métabolisme et fonctions des cellules*. Nous avons un coefficient représentant la puissance maxima en milieu aérobie de la cellule vivante, défini d'une façon physique parfaitement correcte, ce qui est essentiel, d'une façon physiologique *parfaitement arbitraire*. Tous les laboratoires de physiologie cellulaire, qui sont plusieurs dizaines dans le monde, ont convenu de faire usage du même arbitraire. Il suffit que cet arbitraire soit expérimentalement facile à définir, commode à réaliser, rapide à mesurer, pour qu'il soit valable. Mais nous ne voulons point cacher ce qu'il y a de conventionnel dans nos procédés de mesures et d'étude;

2° La technique de NICLOUX donne l'intensité respiratoire aux dépens d'une eau de mer non saturée en oxygène; elle donne une *limite inférieure* de l'intensité physiologique normale des tissus. La valeur de l'intensité respiratoire ainsi mesurée dépend de la durée de l'expérience, des équilibres de diffusion au contact des tissus; elle est physiquement moins bien définie que la valeur donnée par la méthode de WARBURG. Il n'y a pas de doute qu'elle soit *physiologiquement plus correcte*, au moins pour des temps courts, lorsque l'eau du récipient est presque saturée d'oxygène. Nous pensons que s'il était possible de mesurer l'intensité respiratoire sur les tissus de l'Huître vivante sur les bancs où elle vit, cette valeur serait un peu supérieure aux chiffres de la technique de NICLOUX, mais bien inférieure aux chiffres de la méthode de WARBURG.

Si l'on devait faire intervenir les Io^2 pour calculer les besoins réels des tissus de l'Huître vivante, il serait plus correct de tabler sur les valeurs données par la méthode qui utilise les dosages d'oxygène dissous. Donnons une idée de la masse de matière que représentent les oxydations correspondant aux Io^2 indiqués; admettons, ce qui est à peu près vrai dans le cas du glucose, que l'oxygène oxyde son propre poids de matière organique. 1 gramme de tissu sec dont $\text{Io}^2 = 1$ consomme 1 cc. d'oxygène par heure soit sensible-

ment 1,3 mg.; en vingt-huit jours ou six cent soixante-douze heures, ce tissu aura consommé, à peu près, son propre poids de substance. Dans la nature, l'Huitre n'est pas à 27°5, mais à des températures comprises entre 0 et 20°; prenons une température de 10° et un Io^2 , 4 fois plus faible qu'à 27°5. La cellule d'Huitre mettra quatre mois à consommer son propre poids de substance.

Les Io^2 d'après la méthode de dosage d'oxygène, étant de l'ordre de 0,4 à 0,8, c'est de cinq à dix mois que l'Huitre mettra pour consommer son poids de substance; d'après les chiffres de la méthode de WARBURG, la cellule devrait se consommer en deux à cinq mois. Les bacs superiodés du laboratoire d'Arcachon ont conservé des Huitres de trois à cinq mois parfaitement vivantes; ainsi que nous l'avons montré en 1929, le traitement à l'iode ne modifie pas le métabolisme des tissus de l'Huitre. La température des bacs était comprise entre 10° et 20°, mais plus voisine de 15°. Les Huitres maigrissaient au cours de cette inanition; elles restaient vivantes, les coefficients physiologiques, d'après WARBURG, diminuant très peu. Cette expérience est purement qualitative, et il ne peut pas en être autrement, car les Huitres des bacs ne sont pas complètement à l'inanition, l'eau des bacs renfermant une masse non négligeable de matières organiques. Néanmoins, elle est assez nette pour pouvoir affirmer ceci : si les Huitres des bacs avaient les coefficients respiratoires donnés par la méthode de WARBURG, elles ne pourraient résister à une inanition de cinq mois à 10°-15°; si elles ont les coefficients que fournit la seconde méthode, elles peuvent résister à une pareille inanition en perdant la moitié de leur propre substance organique (comme ordre de grandeur). C'est ce que vérifie la pratique.

CHAPITRE III

VARIATIONS DE LA RESPIRATION

- § 1. — Combustions respiratoires :
 - a) Action de l'oxygène pur;
 - b) Action de diverses substances.
- § 2. — Croissance et respiration.
- § 3. — Influence de la température.
- § 4. — Influence de pH et de la salinité.
- § 5. — Action de l'iode :
 - a) Eau iodée (Salles et Loubatié).
 - b) Iode libre.
- § 6. — Action des colorants.
- § 7. — Inhibition de la respiration par le KCN.
- § 8. — Inhibition de la respiration par le phénylurétane.
- § 9. — L'Huitre plate.

§ 1. — Combustions respiratoires.

Tout élément qui respire étant le siège d'oxydations, l'étude d'un métabolisme cellulaire doit répondre à des conditions bien définies. Son principe même est de mesurer le métabolisme maximum des cellules dans le cas où celles-ci sont à la fois saturées en oxygène et en matériaux respiratoires. Il importait donc de vérifier si nos tissus, simplement suspendus et agités dans de l'eau de mer, possèdent bien le comburant et le combustible qui leur sont nécessaires pour atteindre ce maximum.

a) ACTION DE L'OXYGÈNE PUR.

Nous avons d'abord placé les tissus dans une eau de mer saturée d'oxygène; l'atmosphère d'air du récipient fut remplacée par de l'oxygène. Les expériences réalisées dans ce sens ont montré qu'il n'y a pratiquement pas de différence entre les Io^2 obtenus dans l'air et les Io^2 obtenus dans l'oxygène (tableau IV); une toute petite augmentation en faveur de l'oxygène pur apparaît dans certains cas, mais nous pouvons considérer que nos tissus agités à l'air sont suffisamment pourvus en oxygène. Ce résultat est fort important : l'intensité respiratoire mesurée dans la méthode de O. WARBURG est l'intensité respiratoire maxima des cellules, définie comme étant indépendante de la pression d'oxygène. L'intensité respiratoire mesurée dans nos expériences répondrait à cette condition.

TABLEAU IV
Respiration des tissus dans l'oxygène (Tissus fragmentés).
 Io^2 à T : 27°5.

DATES	MANTEAU	BRANCHIES	MUSCLE	H. PANCRÉAS
20 septembre 1930...	0,91	2,09	0,23	1,60
22 septembre 1930....	1,07	1,80	0,35	2,31
23 septembre 1930....	0,70	1,79	0,24	1,80
23 septembre 1930....	0,98	1,90	0,25	1,76
24 septembre 1930. ...	0,89	1,68	0,19	2,10
7 août 1931.....	0,78	1,54	0,29	1,98
8 août 1931.....	1,23	2,12	0,26	2,02
9 août 1931.....	1,10	2,01	0,31	1,97

b) ACTIONS DE DIVERSES SUBSTANCES.

Par l'addition de substances capables d'être oxydées, nous avons cherché à savoir si la deuxième condition était réalisée. Pour cela, nous avons utilisé les ampoules latérales des récipients, au cours des manipulations, nous avons ainsi introduit des solutions de glucose, de lévulose, de glycocolle, de lactate de soude, de glycogène. Présentés aux tissus à des concentrations telles que ceux-ci puissent les utiliser, ces

apports alimentaires ne modifient pas les intensités respiratoires (tableau V). Donc, les cellules, selon toute vraisemblance, ont normalement à leur disposition une quantité d'éléments nutritifs susceptible d'entretenir chez elles le maximum d'activité.

TABEAU V
Action du glucose, lévulose, lactate de Na et glycolle
sur la respiration de tissus de portugaises de 30 mois.

I₀° à T : 27°5.

DATES		MANTEAU	BRANCHIES	MUSCLE	H. PANCRÉAS
28 septembre 1929.	Tissus sans lévulose.	1,13	2,01	0,236	1,74
28 septembre 1929.	Tissus addition de lévulose.	1,06	1,75	0,25	1,81
1 ^{er} septembre 1929.	Tissus sans glucose.	1,00	1,72	0,27	2,33
1 ^{er} septembre 1929.	Tissus addition de glucose.	0,95	1,72	0,32	2,30
3 septembre 1929.	Tissus sans glycolle.	0,76	1,68	0,26	1,49
3 septembre 1929.	Tissus addition de glycolle.	0,79	1,72	0,30	1,50
24 octobre 1929....	Tissus sans lactate de Na.	0,90	1,76	»	1,79
24 octobre 1929....	Tissus addition de lactate.	0,95	1,44	»	1,20
10 août 1931.....	Tissus sans lactate.	1,02	1,69	0,27	1,42
10 août 1931.....	Tissus addition de lactate.	1,00	1,73	0,23	1,37

A diverses reprises, nous avons eu l'occasion de déterminer le quotient respiratoire des tissus. Sans vouloir attribuer à ces mesures plus de précision qu'elles ne peuvent avoir (les tissus ne sont pas une suspension homogène de cellules que l'on peut répartir également dans plusieurs récipients), signalons toutefois les valeurs obtenues. Nos chiffres représentant le rapport :

$$\frac{\text{molécules d'acide carbonique produit}}{\text{molécules d'oxygène disparu}}$$

ont toujours été inférieurs à 1. D'après cela, les oxydations ne se feraient pas seulement aux dépens de substances telles que le sucre, mais porteraient aussi sur des graisses et des albuminoïdes. Ces derniers corps, en effet, au cours de leur combustion, ne donnent pas une molécule d'acide carbonique pour une molécule d'oxygène disparu, mais une quantité plus faible.

§ 2. — Croissance et respiration.

Tous les résultats que nous avons donnés jusqu'ici portent uniquement sur des tissus d'Huîtres portugaises de même âge : environ 3 ans. Ce laps de temps représente approximativement la durée de croissance du Mollusque pour être livré normalement à la consommation. Le métabolisme d'une cellule étant, d'une manière tout à fait générale, lié à sa croissance, nous avons comparé les tissus prélevés sur des animaux d'âges variés. Nous avons pris de jeunes Huîtres dont l'âge variait entre 10 et 15 mois; bien que petites, elles sont cependant très faciles à disséquer. Pour les vieilles, nous nous sommes adressé aux Huîtres mères de la Pointe de Branne; leur âge variait entre 6 et 9 ans. Ces échantillons, représentant les divers stades du développement du Lamelli-branché; ont montré des intensités respiratoires différentes. Le tableau VI indique, en effet, d'une façon très nette, que le tissu, au cours de sa croissance présente un I_{O_2} qui va en décroissant. Ceci n'a rien de surprenant : c'est un caractère des cellules appartenant à des tissus qui se développent de respirer plus activement que des cellules adultes. L'Huître a une croissance très lente et nous voyons que ses éléments respirent d'autant mieux qu'ils sont plus jeunes.

TABLEAU VI
Intensités respiratoires en fonction de l'âge des tissus.
 I_{O_2} à T : 27°5.

DATES		MANTEAU	BRANCHE	MUSCLE	H. PANCRÉAS
19 septembre 1931.	Portugaises de 10 à 15 mois.	1,3	2,1	0,46	2,30
20 septembre 1931.	Portugaises de 10 à 15 mois	1,18	2,5	0,45	1,98
	Portugaises de 30 mois (valeurs moyennes).	0,96	1,72	0,25	1,90
24 septembre 1931.	Portugaises de 6 ans.	0,68	1,23	0,17	0,92
24 septembre 1931.	Portugaises de 9 ans.	0,75	1,37	0,19	0,98

J.-G. DAVIS et W.-K. SLATER (1918), mesurant l'intensité respiratoire des tissus d'un Invertébré terrestre (*Lumbricus terrestris*), constatent qu'elle est d'autant plus faible que l'animal est plus grand et plus âgé. Il en est de même lorsqu'il s'agit des Huîtres.

§ 3. — Influence de la température.

Cultivées sur les parcs, les Huîtres sont soumises au moment de la basse mer, et particulièrement lors des fortes marées, aux rigueurs du froid et de la chaleur. La distance du parc à la côte a son importance (parcs de 1^{re}, 2^e, 3^e ligne).

Il n'est pas fréquent, mais c'est un fait connu que l'on trouve quelquefois de la glace en ouvrant des Huîtres. En plein hiver, sur le Bassin d'Arcachon, il arrive que les parqueurs apportent des coquillages renfermant de petits glaçons. Si l'on a la précaution de réchauffer progressivement les Mollusques, ils reprennent leur activité; mais si la température ambiante ne leur permet pas de retrouver leur liquide intervalvaire, ils succombent. Sur le parc à sec, si l'eau de l'Huître commence à se congeler, le flot à mer montante la recouvre et élève sa température. Donc, à sec, l'Huître exposée au froid intense est en danger; sous l'eau, elle ne craint rien, et les parcs les plus exposés aux inconvénients sont évidemment ceux qui bordent le rivage. Les cas exceptionnels de froid très rigoureux mis à part (cas où les tissus eux-mêmes subissent la congélation), l'Huître résiste aux abaissements de température; sa résistance est une question de temps, les parcs étant découverts en moyenne trois heures environ.

Le problème de la physiologie individuelle de ce Mollusque ne faisant pas partie du cadre de ce travail, le comportement des tissus sous l'action du froid a seul été étudié. Des lots d'Huîtres placés au frigidaire réglé à $+ 1^{\circ}$, $+ 2^{\circ}$, $+ 4^{\circ}$ ont été maintenus à ces températures pendant quarante-huit heures. Toutes les six heures nous en prélevions une demi-douzaine et, après les avoir ramenées à la température ambiante avec le maximum de précautions, nous mesurions les

intensités respiratoires. Il est difficile, en réalité, de voir dans les chiffres obtenus une variation bien apparente. Cependant (tableau VII), l'hépatopancréas est le tissu qui est le plus atteint par un abaissement de température. Nous avons aussi pratiqué un début de congélation du liquide intervalvaire; les Io^2 ne sont pas altérés d'une façon assez sensible pour permettre une interprétation.

TABLEAU VII
Action du froid sur la respiration des tissus de portugaises.
 Io^2 mesurés à 27°5.

	MANTEAU	BRANCHE	MUSCLE	H. PANCÉAS	DATES
Huîtres placées à + 4° pendant 24 h.....	1,14	0,90	0,3	1,4	17 août 1931.
Huîtres placées à + 4° pendant 48 h.....	1,06	0,87	0,3	0,8	18 août 1931.

Tout ce que nous avons dit au sujet du froid au début de ce chapitre est à redire pour la chaleur. L'Huître, par le milieu liquide qui l'environne, se défend contre les excès thermiques. Les tissus d'un animal placé à + 35° pendant vingt-quatre heures respirent de la même façon que ceux des témoins ayant vécu à 15°. Après ce temps, suivant les échantillons, on assiste à un début de désorganisation des tissus, et par conséquent à des chutes plus ou moins prononcées de leur consommation en oxygène.

§ 4. — Influence du pH et de la salinité.

pH. — Si l'on ajoute à de l'eau de mer des quantités croissantes d'acide chlorhydrique, on obtient des solutions salines du pH décroissants. C'est ainsi que nous avons préparé les liqueurs suivantes :

Eau de mer à pH 7,3;
Eau de mer à pH 6,3;
Eau de mer à pH 5,3.

Lors de la dissection, les tissus étaient placés dans des petits verres renfermant environ 50 cc. de ces solutions et lavés pendant cinq minutes. Cette opération était répétée une deuxième fois, et ensuite on déterminait les intensités respiratoires. Chaque récipient de WARBURG renfermait 2 cc. de la même eau que celle qui avait servi aux lavages.

Comme conclusion, un pH tel que 5,3 semble être le seul qui puisse occasionner une perturbation dans le métabolisme respiratoire des quatre tissus que nous avons étudiés. La diminution que l'on observe est d'environ 20 p. 100.

Généralement, les branchies et l'hépatopancréas sont seuls touchés par un milieu répondant à un pH 6,3; encore faut-il dire que l'abaissement de Io^2 n'est pas systématique et surtout de forte intensité.

Salinité. — L'eau de mer dans laquelle vivent les Huîtres peut voir sa concentration en sels varier. En particulier, près de l'embouchure des rivières, cette concentration s'abaisse plus ou moins selon les apports d'eau douce. BOUXIN publie dans le *Bulletin de l'Institut océanographique* (n° 569) un travail où il étudie l'influence des variations rapides de la salinité chez *Mytilus edulis* (animal entier). Il mesure la réaction à la consommation en oxygène des Lamellibranches.

Les expériences que nous avons réalisées ne portent pas sur l'Huître (animal entier), mais toujours sur ses principaux tissus. Après avoir été lavés pendant un quart d'heure environ dans des solutions dont la salinité était modifiée par des additions d'eau douce, les morceaux d'organes ont été déposés dans les récipients manométriques en présence de 2 cc. d'une eau identique à celle du lavage. Jusqu'à la proportion de 20 p. 100 d'eau douce, les intensités respiratoires ne sont en rien modifiées. Quand la teneur en eau douce augmente, les consommations en oxygène décroissent; à 50 p. 100 d'eau douce, les Io^2 se sont abaissés de plus de 45 p. 100.

Dans la nature, si le milieu vital de l'Huître vient à recevoir seulement de faibles proportions d'eau douce, l'animal

« engraisse ». D'ailleurs, on utilise des eaux légèrement dessalées pour l'engraissement artificiel. Les tissus se chargent alors d'une substance laiteuse et le volume du Mollusque devient considérable. Nous nous sommes procuré des Huîtres qui, après avoir vécu dans de telles conditions, étaient particulièrement grasses; nous avons déterminé les Io^2 de leurs tissus. Systématiquement, les chiffres sont inférieurs à ceux que l'on trouve pour les sujets normaux. Cette variation ne permet aucune interprétation, car elle est subordonnée aussi aux matières nouvelles qui s'accumulent dans les organes et qui, au cours de la mesure, jouent un rôle effacé dans les oxydations, mais réapparaissent lors de la détermination du poids sec.

Pour les manipulations, il faudra donc tenir compte de l'état du matériel. L'époque du prélèvement et l'emplacement du parc sont des facteurs à ne pas négliger. A forte dose, dans un bassin, l'eau douce fait mourir l'Huître; celle-ci présente, selon les concentrations, les divers degrés d'un grand affaiblissement avant de succomber. Cependant, durant ce stade de vitalité amoindrie, ses tissus sont presque aussi « vivants » quant à leur faculté d'oxydation.

§ 5. — Action de l'iode.

a) EAU IODÉE (SALLES et LOUBATIÉ).

MM. SALLES et LOUBATIÉ ont montré (*Bulletin de la Société scientifique d'Arcachon*, t. 27, 1930) que des Huîtres placées dans des bassins renfermant une eau de mer aérée à volonté et additionnée d'une solution iodée en concentration déterminée vivent parfaitement s'enrichissent en iode. Nous ne dirons rien de plus du procédé SALLES et LOUBATIÉ; ces auteurs, dans leur publication, ont donné une description complète de leur appareil. Quelle que soit la forme que l'iode prenne dans l'eau de ces bassins et dans les Mollusques qui y séjournent, toujours est-il qu'il nous a paru normal de nous rendre compte si ce traitement venait modifier les phénomènes respiratoires cellulaires.

L'année dernière, nous avons déjà donné, à ce sujet, une

note résumant quelques expériences; celles-ci permettaient d'affirmer que tout tissu iodé ne se différencie pas d'un tissu normal. Les éléments nouveaux qu'apporte aux Huitres ce séjour dans les bassins ne sont donc pas de nature à altérer en quoi que ce soit les agents du mécanisme des oxydations. De la même façon, nous avons tenu à savoir si le passage brusque d'un tissu du milieu eau de mer normale au milieu iodé, ou inversement, pouvait déterminer une variation du coefficient Io^2 . Un tissu normal que l'on met en suspension dans de l'eau iodée respire de la même façon que s'il se trouvait dans l'eau intervalvaire de l'Huitre. De même, un animal iodé fournit des tissus qui, dans l'eau de mer ordinaire, présente un intensité respiratoire inchangée.

Tous les chiffres du tableau VIII concernent des Huitres traitées par le procédé SALLES et LOUBATIÉ; ils sont identiques à ceux portés sur le tableau I.

TABLEAU VIII
Intensités respiratoires des tissus d'huitres iodées.
 Io^2 à T : 27°5.

DATES	MANTEAU	BRANCHIES	MUSCLE	II. PANCRÉAS
3 octobre 1929.....	0,97	2,40	0,41	1,91
10 octobre 1929.....	1,00	1,37	»	2,40
28 septembre 1930....	1,12	1,72	0,25	1,69
29 septembre 1930....	0,98	1,76	0,29	1,58
18 août 1931.....	1,20	1,49	0,32	1,77
18 août 1931.....	0,79	1,45	0,26	1,94
20 août 1931.....	0,87	1,69	0,23	2,25

IODE LIBRE.

Précédemment, sur les hématies de la cavité générale du Siponcle, nous avons vu que l'iode libre, employé à des doses ne dépassant pas 3 p. 1.000 du poids sec des cellules, n'apportait aucun changement tant morphologique que physiologique. La destruction des cellules apparaissait dès que la quantité d'iode excédait 3 p. 1.000. Reprenant ces expériences

ces sur les tissus des Huîtres, nous avons pratiqué les manipulations de deux façons différentes :

a) Les tissus respirant dans les récipients de WARBURG recevaient l'iode en solution de l'ampoule latérale. Ainsi, par des mesures portant sur des temps assez courts, on pouvait se rendre compte s'il y avait choc ou non, et cela avec beaucoup de précision, puisque l'on effectuait la détermination sur le même échantillon;

b) Les tissus séjournaient quelques instants dans de l'eau de mer renfermant de l'iode libre avant d'être étudiés. Ici, disons en passant que dans une eau qui contient de l'iode libre les tissus ont rapidement capté cet iode.

Par la première technique, en ajoutant des quantités croissantes d'une solution titrée d'iode, nous avons pu constater que les tissus supportaient jusqu'à 6 p. 1.000 d'iode de leur poids sec, sans présenter un trouble quelconque. Ainsi 0 cc. 2 d'une solution d'I N/100 ou 0 cc. 2 d'I N/50 versés dans l'eau de mer baignant les tissus ne les incommode pas du tout (tableau IX). En employant la deuxième technique, nous sommes arrivé à une conclusion semblable.

TABLEAU IX
Action de l'iode libre sur les tissus d'Huîtres.
Date : 13 août 1934. — I_0^2 à T : 27°5.

	MANTEAU	BRANCHIES	MUSCLE	II. PANCRÉAS
Tissus normaux dans 2 cc. eau de mer...	1,12	1,62	0,29	1,80
Addition de 0 cc. 2 I $\frac{N}{1.000}$	1,09	1,70	0,27	1,69
Tissus normaux.....	1,00	1,59	0,32	1,67
Addition de 0 cc. 2 I $\frac{N}{100}$	1,09	1,57	0,29	1,68
Tissus normaux.....	1,28	1,90	0,25	1,95
Addition de 0 cc. 2 I $\frac{N}{50}$	1,17	1,84	0,25	1,97

Les I_0^2 sont mesurés pendant les deux heures qui suivent l'addition d'I.

Ce résultat tire son intérêt du fait que l'iode agissant brutalement à l'état libre, à des doses relativement élevées sur des cellules vivantes, n'introduit aucune perturbation dans le métabolisme de ces dernières.

§ 6. — Action des colorants.

Parmi les excitants spécifiques de la respiration, le bleu de méthylène et, d'une façon générale, tous les colorants dont le potentiel d'oxydo-réduction est tel qu'ils soient réductibles par les hexoses occupent une place importante. Les hématies du Siponcle nous ont permis de constater, cette action excitatrice. Leur intensité respiratoire, généralement égale à 0,3, prend des valeurs doubles et triples pendant un temps assez long, sous l'influence de ces colorants de rH élevé. Sur ce même matériel, nous avons vu aussi que les colorants de rH bas, les colorants acides, les colorants du triphénylméthane, les colorants minéraux, n'amènent en général aucune modification physiologique.

Nous ouvrant un nouveau champ d'expérimentation sur les Invertébrés, les tissus de l'Huître nous ont donné la possibilité de montrer que ces colorants se comportent envers eux d'une façon sensiblement différente qu'envers les hématies, sinon qualitativement, du moins quantitativement. C'est ainsi que l'addition de bleu de méthylène, de bleu de crésyle, de bleu capri, de thionine ne se traduit que par des augmentations bien légères des intensités respiratoires. La tableau X montre que le muscle paraît indifférent à la présence de ces corps. Les expériences ont ici pourtant une grande sensibilité, puisqu'elles portent sur la détermination de la réaction physiologique sur le même échantillon. L'hépatopancréas, qui n'est pas mentionné dans le tableau, subit, sous l'influence de ces colorants, des élévations de son Io^2 du même ordre que la branchie, même plus forte quelquefois.

Le phénomène d'excitation se retrouve donc, sauf chez le muscle. Nos mesures ont porté, en outre, au sujet de ces colorants, sur des animaux dont les réserves cellulaires

étaient très variables. Des Huîtres venant du parc, en pleine vitalité, et des Huîtres ayant vécu depuis six mois dans des bassins ne leur offrant pas d'aliments, se sont pourtant comportées identiquement sous l'influence de bleu de méthylène, de thionine ou de bleu de crésyle. Animaux maigres, animaux gras ne réagissent pas mieux à l'utilisation de ces substances. Mais, venant à faire intervenir l'âge des cellules, nous

TABEAU X

Action des colorants basiques de rH élevé sur la respiration
des tissus de portugaises de 3 ans.

Date : 14 août 1931. — I_0^2 à T : 27°5.

TEMPS	MANTEAU			BRANCHIE			MUSCLE		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1 heure.....	1,22	1,4	1,18	1,47	1,64	2,32	0,27	0,31	0,32
1 h. 30.....									
ADDITION DES COLORANTS									
1 h. 35.....	1,94	2,05	2,04	2,03	2,99	3,19	0,28	0,28	0,31
2 h. 05.....	1,40	1,35	1,39	1,47	2,13	2,71	0,27	0,28	0,26
2 h. 35.....	1,31	1,20	1,28	1,52	2,03	2,21	0,21	0,24	0,24
3 h. 05.....	1,20	1,25	1,22	1,56	2,01	1,8	»	»	»
3 h. 35.....									

I. Bleu de méthylène.
II. Bleu Crésyle.
III. Bleu Capri.

avons vu que, dans ces conditions, les colorants pouvaient se montrer plus actifs. Une Huître de 15 mois possède, en effet, des tissus dont les I_0^2 prennent par addition de bleu de méthylène, ou d'un autre colorant de sa série, des valeurs presque doubles. Le tableau XI se rapporte au bleu de méthylène. L'affinité des tissus de l'Huître pour ces colorants se manifeste donc plus nettement; jeunes, leur réaction est plus forte. Les Huîtres de 6 à 8 ans réagissent encore aux

mêmes influences, mais-alors les I_{0^2} ne font plus qu'un timide essai de croissance. Le muscle est insensible (tableau XI).

TABLEAU XI

Action du bleu de méthylène sur des Huitres d'âges différents.

Date : 20 septembre 1931. — I_{0^2} à T : 27°5.

	MANTEAU		BRANCHIE		MUSCLE		H. PANCRÉAS	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Portugaises de 15 mois . .	1,72	2,95	2,5	4,2	0,45	0,75	1,94	4,10
Portugaises de 7 ans	1,01	1,12	1,23	1,45	0,17	0,17	0,92	1,00

Les colonnes A indiquent les I_{0^2} avant l'addition du colorant ; en B sont les valeurs des I_{0^2} après l'addition.

Si nous lisons ces divers tableaux, nous voyons que le muscle subit l'action excitatrice du bleu de méthylène seulement, lorsqu'il appartient à un animal jeune. Dès que l'Huitre a atteint 2 ans $1/2$ à 3 ans, il garde son intensité respiratoire. Vers 3 ans, le Mollusque semble se murer dans une impassibilité physiologique qu'il est difficile de venir troubler.

En résumé, les colorants de rH élevé exercent une influence excitatrice sur les tissus de l'Huitre, l'excitation diminue avec l'âge et même s'annule dans le cas du muscle.

Passons maintenant aux colorants basiques de rH bas non réductibles par les hexoses. Nous constatons que leur influence sur la respiration de nos tissus est nulle (cas du rouge neutre et du violet neutre). Le vert Janus et la phénosafranine qui, sur les hématies du Siponcle, nous avaient montré des phénomènes d'inhibition, ont manifesté ici encore leur légère toxicité (tableau XII).

En ce qui concerne les autres colorants : colorants acides, colorants du triphénylméthane et colorants minéraux, il n'y a rien de particulier à signaler. Ils se comportent toujours de la même façon sur nos tissus, aussi bien que sur les

hématies du Siponcle. Leur nature ne leur permet pas de toucher le mécanisme de la cellule, sinon pour l'inhiber.

TABLEAU XII
Colorants basiques de rH bas (Portugaises de 3 ans).
Date : 12 août 1931. — 10° à T : 27°5.

TEMPS	MANTEAU			BRANCHIE			MUSCLE		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
15 heures.....	1,06	1,03	1,17	1,67	1,47	1,45	0,30	0,25	0,28
15 h. 30.....									
ADDITION DES COLORANTS									
15 h. 35.....	1,17	0,70	0,69	1,75	1,40	1,26	0,25	0,20	0,20
16 h. 05.....	0,95	0,67	0,65	1,51	1,19	1,09	0,28	0,12	0,15
16 h. 35.....	0,92	0,59	0,39	1,45	1,08	0,78	0,22	0,10	0,13
17 h. 05.....	0,89	0,53	0,47	1,35	1,04	0,80	»	»	»
17 h. 35.....									
I. Rouge neutre. II. Vert Janus. III. Phénosafranine.									

§ 7. — Inhibition de la respiration par le cyanure de potassium.

Le cyanure de potassium est, d'une façon très générale, un inhibiteur spécifique des phénomènes respiratoires. Cette action est indépendante de la pression d'oxygène (O. WARBURG, 1927). Mais si KCN atteint dans la cellule le processus de respiration, il ne s'attaque pas pour cela à toutes les réactions dont cet organisme est le siège. C'est ainsi que la fermentation cellulaire n'est pas gênée et que l'addition de cyanure permet, en inhibant les échanges gazeux dus à la respiration, de mesurer la valeur de la fermentation. Néanmoins, la seule présence d'une trace de cyanure de potassium n'est pas nécessairement la cause d'un arrêt total de la respiration. La concentration du poison intervient, et les cel-

lules ne réagissent pas toutes de la même façon; qualitativement, le phénomène est le même; quantitativement, il varie d'un individu à une autre espèce d'individu (O. WARBURG, 1920; L. GENEVOIS, 1928).

Pour nos expériences sur la résistance des tissus de l'Huître à l'action nocive du cyanure de potassium, nous avons utilisé une solution mère de ce sel à la concentration de 5 p. 1.000. Par dilutions, nous avons préparé des liqueurs à 1 p. 1.000, 0,5 p. 1.000 et 0,05 p. 1.000. Les inhibitions se font sentir pour une addition aux 2 cc. d'eau de mer, dans laquelle respirent les tissus de 0 cc. 2 de KCN à 0,05 p. 1.000. Les intensités respiratoires ne sont pas modifiées par une addition de 0,2 de KCN à 0,005 p. 1.000, ce qui représente une concentration finale de l'ordre de 1/100.000^e de molécule. KCN agit nettement à M/10.000, plus fort à M/1.000, mais l'inhibition n'est complète qu'à M/100. En augmentant la teneur en cyanure, on se trouve en présence de chiffres bien plus faibles; en effet, 0 cc. 2 de KCN à 0,5 p. 1.000 abaissent les I_{o^2} à des valeurs environ 3 fois moins élevées que les valeurs normales. Si l'on vient à ajouter aux tissus une solution à 1 p. 1.000, alors suivant les échantillons on obtient des dégagements gazeux insignifiants et intermittents qui trahissent le terme ultime de la résistance des cellules. Le tableau XIII, qui expose une partie de ces résultats, est formé des valeurs mesurées pendant les deux heures qui ont suivi l'addition. Le manteau, les branchies et le muscle nous montrent en outre que, lorsque la concentration de cyanure de potassium est multipliée par 10, la respiration est divisée par 2. L'hépatopancréas semble plus sensible à l'action du toxique.

TABLEAU XIII

Intensités respiratoires en présence de KCN à 27°5 (I_0^2 mesurés après addition de 0 cc. 2 de KCN aux 2 cc. d'eau de mer baignant les tissus).

Date : 20 août 1931.

KCN AJOUTÉ	MANTEAU	BRANCHE	MUSCLE	H. PANCRÉAS
0 cc. 2 KCN à 0 gr. 5 0/00. . .	0,21	0,5	0,095	0,20
0 cc. 2 KCN à 0 gr. 05 0/00. . .	0,47	0,83	0,12	0,41
0 cc. 2 KCN à 0 gr. 005 0/00. . .	0,72	1,60	0,20	1,76

En dehors de cette dernière constatation, dont l'intérêt est tout à fait relatif, nous voyons que la concentration en cyanure fatale pour nos tissus est assez élevée.

§ 8. — Inhibition par le phényluréthane.

Nous venons de voir l'action inhibitrice d'un corps qui agit par influence chimique. Le phényluréthane, d'après O. WARBURG, ne s'adresse pas à un phénomène chimique pour faire sentir son action dans les cellules. Il ne les pénètre pas; il s'accumule sur les surfaces cellulaires, et là, exerce son action en empêchant les matières colloïdales de jouer leur rôle normal dans les oxydations. De là, l'inhibition qu'il produit : phénomène constaté sur les globules rouges d'oiseaux par O. WARBURG, qui relate une diminution de 90 p. 100 de l'intensité respiratoire. Les cellules d'Entéromorphes ont aussi permis à L. GENEVOIS de montrer une inhibition de 80 à 85 p. 100. Le mécanisme même de l'action du phényluréthane va être très intéressant pour expliquer la divergence de son influence quantitative et la vitesse de cette influence sur les tissus des Huitres.

TABLEAU XIV
Influence du phényluréthane sur la respiration des tissus
de portugaises.

Date : 19 septembre 1934. — I_0^2 à T : 27°5.

TEMPS	BRANCHES		MUSCLE		H. PANCRÉAS	
3 heures.						
4 heures.	1,67	1,42	0,23	0,30	1,97	1,77
ADDITION DE PHÉNYLURÉTHANE						
4 h. 10 ..						
	1,70	1,39	0,25	0,30	1,90	1,80
5 h. 10 ..						
	1,20	1,00	0,24	0,23	1,40	1,54
6 h. 10 ..						
	0,91	0,93	0,49	0,44	1,01	1,19
7 h. 10 ..						

Ceux-ci, en présence d'une solution alcoolique de phényluréthane (0 cc. 2 d'une solution alcoolique à 1 p. 100 dans 2 cc. d'eau de mer) ne présentent, aussitôt l'addition de ce corps, aucun trouble. Cette résistance se prolonge un certain temps, suivant les échantillons; ce temps est variable mais jamais inférieur à une heure. A partir de ce moment, on note une inhibition; mais, quelle que soit la durée de l'expérience, jamais cette inhibition ne vient à se traduire par un pourcentage atteignant 80 ou 90. Le retard dans l'action du phényluréthane se comprend par le fait qu'au même instant le narcotique ne peut pas pénétrer dans tous les interstices cellulaires et aller se placer où il veut. Nous ne sommes pas en présence d'une suspension de cellules où chacune d'elles va se trouver environnée de la substance qui n'a pas agi. Ici les cellules sont préservées contre le poison. Mais, une fois que la pénétration du phényluréthane est commencée, on mesure des I_0^2 plus faibles; l'abaissement va jusqu'à 40 à 50 p. 100. Au cours de la décroissance, on ne remarque pas de chute brusque.

Il semblerait, en quelque sorte, que le phényluréthane

continue à pénétrer longtemps encore après son addition au milieu. Mais toute mesure doit avoir des limites. Même en utilisant des temps très supérieurs à ceux qui ont déjà servi à la détermination du pouvoir narcotique du phényluréthane dans les cellules, nous ne retrouvons pas le même ordre d'inhibition constaté sur d'autres organismes.

§ 9. — L'Huître plate.

Nous avons dit, au début de ce travail, que nos expériences s'adressaient aux tissus des Huîtres; mais, jusqu'ici, nous n'avons parlé exclusivement que de *Gryphaea angulata*. Tous ceux qui ont manipulé des huîtres savent que, d'une façon tout à fait générale, la Gryphée est moins délicate qu'*Ostrea edulis*. La différence n'est qu'une variation de résistance; entre ces deux Mollusques, il existe d'autres différences, mais ceci n'est pas du cadre de cette étude.

En valeur absolue, les intensités respiratoires sont les mêmes. Le tableau XV permet de s'en rendre compte. Nous

TABLEAU XV

Huître plate. Action du bleu de méthylène et du rouge neutre.

Date : 21 août 1931. — I_0 à T : 27°5.

TEMPS	MANTEAU		BRANCHIE		MUSCLE		H. PANCRÉAS	
	Bleu de méthylène	Rouge neutre	Bleu de méthylène	Rouge neutre	Bleu de méthylène	Rouge neutre	Bleu de méthylène	Rouge neutre
9 heures ..	1.44	1.7	1,3	1.42	0,32	0,27	1.89	1,71
9 h. 30								
ADDITION DES COLORANTS								
9 h. 35	2,36	2,00	1,97	2,01	0,43	0,27	2,55	2,30
10 h. 05	1.88	1,70	1.64	1,54	0,41	0,19	2,01	1,70
10 h. 35	1,66	1,80	1,41	1,54	0,35	0,19	1,66	1,70
11 h. 05								

n'avons pas fait d'une façon aussi systématique que pour les Portugaises, des observations sur les Huîtres plates. Mais, chaque fois que nous avons étudié le comportement des premières sous l'influence de certains facteurs nous avons parallèlement, d'une façon assez grossière, noté ce qu'il advenait pour les autres dans les mêmes conditions. Nous n'avons pas eu l'occasion de trouver entre ces tissus des distinctions nettes. Mais nous pouvons tirer de ces comparaisons la conclusion suivante : les tissus des Plates sont plus sensibles que ceux des Portugaises. En particulier, la température est un facteur important pour elles. Nous donnons dans le tableau XV un aperçu de l'ordre de grandeur des intensités respiratoires de ces Huîtres. En même temps, nous avons mentionné les valeurs que prennent ces intensités sous l'influence de deux colorants, l'un de rH élevé : le bleu de méthylène; l'autre de rH bas : le rouge neutre.

Le rouge neutre agit faiblement ou pas du tout; le bleu de méthylène active la respiration d'une façon analogue à ce qui se produit chez les Gryphées. Ces mesures, effectuées sur des sujets de 3 ans environ, nous montrent que chez *Ostrea edulis* le muscle est encore sensible au bleu de méthylène, alors que le muscle d'une Portugaise de 3 ans ne respire pas mieux en présence d'un colorant.

CHAPITRE IV

ANAEROBIOSE

I. — Mesures manométriques.

- § 1. — Technique d'anaérobiose.
- § 2. — CO_2 dégagé dans l'azote.
- § 3. — Ce CO_2 provient d'un acide fixe.
- § 4. — Cet acide fixe provient d'une fermentation glucidique.
- § 5. — Résultats en fonction de l'âge et de la nature des tissus.
- § 6. — Essai d'isolement du ferment.

II. — Mesures chimiques.

- § 1. — Dosage de l'acide lactique (K. Lohmann).
- § 2. — Défécation des liquides à analyser.
- § 3. — Rétention physiologique de l'acide lactique.
- § 4. — Anaérobiose des Vertébrés et des Invertébrés.

I. — MESURES MANOMETRIQUES

§ 1. — Technique d'anaérobiose.

La méthode qui nous a permis de mesurer l'intensité de cette formation de gaz carbonique est celle de O. WARBURG. Les récipients utilisés pour la respiration sont, en effet, aptes à ces déterminations. Il suffit de remplacer l'atmosphère d'air par un gaz inerte pour que les manomètres traduisent les échanges gazeux du mécanisme anaérobie des cellules. Mais, pour mesurer le CO_2 qu'abandonnent des tissus suspendus dans de l'eau de mer, il faut tenir compte de la solubilité de ce gaz. Tout dégagement direct ou indirect de CO_2 ne peut être mis en évidence exactement que dans une eau de mer saturée de CO_2 et surmontée d'une atmosphère contenant du CO_2 à la tension du gaz qui a saturé l'eau de mer.

Pour cela, nous nous sommes servi d'un mélange d'azote et de gaz carbonique (N^2 à 5 p. 100 de CO^2). Les tissus coupés reposaient dans une eau où ce mélange gazeux avait barboté jusqu'à saturation. Cette eau était de l'eau de mer artificielle à laquelle nous avons ajouté du bicarbonate de sodium. La liqueur renfermait sensiblement 1 p. 1.000 de ce sel.

Le mélange azote gaz carbonique que fournit le commerce renferme des impuretés qui ne sont pas négligeables; en effet, une petite quantité d'oxygène se trouve dans ces gaz, et les tissus reçoivent jusqu'à une certaine profondeur un peu d'oxygène susceptible d'entretenir les phénomènes respiratoires pendant quelque temps. L'expérience nous a montré la présence très sensible d'oxygène dans nos mélanges. Nous avons aussi utilisé, pour être certain de l'anaérobiose, le phosphore. Les fragments de ce métalloïde, déposés dans le godet central de chaque récipient, fixent l'oxygène. Dans ce cas, l'eau baignant les tissus avait été saturée du CO^2 de l'air provenant d'une soufflerie. Cette façon d'opérer n'entache en rien la correction des mesures, ainsi nous avons obtenu des chiffres très réguliers, plus réguliers que par balayage de l'air des récipients par le mélange d'azote et de CO^2 .

§ 2. — CO^2 dégagé dans l'azote.

Les divers tissus d'Huîtres, placés dans de l'eau de mer bicarbonatée et dans de l'azote, dégagent régulièrement pendant plusieurs heures du CO^2 ; l'intensité de ce dégagement est caractéristique du tissu considéré; l'hépatopancréas vient en tête, branchie, manteau et muscle viennent ensuite; l'intensité du dégagement est d'autre part notablement plus élevée chez des Huîtres jeunes (15 mois) que chez des huîtres de 3 ans. Les tableaux XVI et XVII donnent les résultats d'un certain nombre de mesures; les écarts entre les diverses mesures pour un même tissu sont du même ordre que pour la respiration, et du même ordre que les écarts rencontrés dans toutes les expériences analogues. Nul doute par conséquent que cette fermentation anaérobie ne corresponde à un phénomène physiologique normal.

TABLEAU XVI

Métabolisme anaérobie des tissus de l'Huitre (Animaux de 3 ans).

T : 27°5.

(Volumes de CO² en mc. par mg. sec de tissu et par heure.)

F ^{N²} CO ²			
Manteau.	Branchies.	Muscle.	H. Pancréas.
0,26	0,67	»	0,54
0,38	0,72	0,16	0,80
0,29	0,54	0,13	0,69
0,24	0,77	0,18	0,62
0,39	0,49	0,11	0,79

TABLEAU XVII

Métabolisme anaérobie des tissus de l'Huitre (Animaux de 12 à 15 mois).

(Volumes de CO² en mc. par mg. sec de tissu et par heure.)

F ^{N²} CO ²			
Manteau.	Branchies.	Muscle.	H. Pancréas.
0,41	1,53	0,37	0,87
0,55	1,41	0,30	1,01
0,47	1,39	0,22	0,98
0,69	1,20	0,23	0,79
0,51	1,50	0,44	1,30

L'addition de glucose ou de glycogène ne modifie pas l'intensité de la fermentation; pareil fait a déjà été signalé par MEYERHOF et SCHULZ [27] pour les nerfs d'*Aplysie*, d'*Octopus* et d'autres Invertébrés. La cellule détruit par heure des quantités de glycogène qui sont comprises entre le millième et le centième (hépatopancréas jeune) de son poids sec, à 27°. Les réserves en glycogène doivent suffire à alimenter cette fermentation pendant une dizaine d'heures d'anaérobiose. Pour une température voisine de 10°, il faudrait multiplier ces durées sans doute par 4; d'autre part, l'oxygène de l'eau intervalaire doit suffire à alimenter la respiration pendant plusieurs heures également (respiration ralentie dans le cas d'un liquide confiné, cas correspondant aux dosages faits par la méthode de NICLOUX). Dans les con-

ditions normales, c'est donc par jours que se compte le temps pendant lequel les tissus de l'Huître, enfermés dans la coquille d'une façon supposée hermétique, sont encore placés dans des conditions physiologiques normales. L'expérience montre, en effet, que l'on peut conserver des Huîtres fermées à sec pendant vingt-quatre à soixante-douze heures au moins, selon la température. Au delà de ce laps de temps, elles tendent à « bâiller », ce qui traduit un changement d'état physiologique.

§ 3. — Ce CO_2 provient d'un acide fixe.

La présence de bicarbonate de soude dans l'eau de mer artificielle qui nous a servi a pour but de permettre à tout acide fixe se produisant au cours de la fermentation de donner naissance à une quantité correspondante de gaz carbonique. S'il se forme un acide fixe, la quantité de bicarbonate doit diminuer au cours de l'anaérobiose. Nous avons vérifié ce dernier point.

Pour cela, nous avons mesuré la réserve alcaline avant et après la manipulation. Deux récipients renfermant des poids égaux d'un même tissu ont été mis en expérience. L'eau qui servait à la détermination contenait une quantité de CO_3HNa telle que nous puissions la mesurer totalement avec nos manomètres. Dans chaque ampoule latérale, il y avait 0 cc. 25 d'une solution d'acide tartrique normale. L'un des deux récipients servait à mesurer le CO_2 libérable avant l'anaérobiose; l'autre n'était renversé qu'après trois heures. La réserve alcaline, plus faible après qu'avant, nous a montré que le CO_2 dégagé venait des bicarbonates de l'eau de mer utilisée.

§ 4. — Cet acide fixe provient d'une fermentation des glucides.

La fermentation des glucides, lactique ou alcoolique, est inhibée par les acides gras halogénés en α . SCHWARTZ et OSCHMANN avaient, dès 1925, signalé que le muscle imprégné d'acide monobromacétique étendu, de monobromacétate ou

de l'éther éthylique de ce corps (en solution N/2.000), ne forme plus d'acide lactique au cours de sa contraction. EINAR LUNDSGAARD, en 1930, montre que la fermentation alcoolique des levures est spécifiquement inhibée par l'acide moniodacétique et ses sels à $2 \cdot 10^{-4}$ N.; au cours de la contraction normale (et non plus de la contraction) du muscle traité par une solution étendue d'acide moniodacétique, il n'y a plus formation d'acide lactique; mais seulement dédoublement du phosphagène ou acide créatinephosphorique en créatine et acide phosphorique.

BARRENSCHEEN et ses collaborateurs (1930-1931) inhibent avec l'acide monobromacétique ou moniodacétique N/2.000, avec l'acide monochloracétique N/500, la fermentation lactique des divers tissus des Vertébrés; GENEVOIS et CAYROL (1931) ont montré que la levure inhibée par l'acide monobromacétique peut encore vivre aux dépens de sa respiration. D'après CAYROL (1931), l'inhibition de la fermentation est spécifique des acides halogénés, leurs sels et leurs éthers; les uréides bromés n'ont pas cette action. GENEVOIS et NICOLAIEFF (1932) arrêtent de même par l'acide monobromacétique à N/2.000 ou l'acide α bromopropionique à N/100 la fermentation lactique bactérienne.

Des cellules diverses des Vertébrés, levures, ferments lactiques, ont leur fermentation inhibée par les acides α halogénés à des concentrations de l'ordre de N/2.000 pour les acides monobromacétique ou moniodacétique; le mécanisme commun à toutes ces inhibitions semble être l'arrêt de l'estérification des glucides par l'acide phosphorique, stade premier de la fermentation glucidique; EINAR LUNDSGAARD a fait le premier cette hypothèse en 1930; YAMASAKI a montré peu après que les hexosephosphates sont encore fermentés par le suc de levure en présence d'acide moniodacétique. La fermentation lactique bactérienne n'est inhibée que par des concentrations N/100 en acide monobromacétique en présence de phosphate N/10 (GENEVOIS et NICOLAIEFF). De même, les cellules animales attaquent en présence d'acide monobromacétique les hexosédéphosphates pour donner du méthylglyoxal (BARRENSCHEEN, 1931).

On peut donc considérer aujourd'hui que l'acide monobromacétique étendu inhibe toutes les fermentations glucidiques animales et végétales. Les tissus d'Huître se sont trouvés extraordinairement sensibles à l'acide monobromacétique; en solution N/20.000, l'inhibition du dégagement de CO_2 était complète au bout d'une heure. L'inhibition était observée au cours de la mesure : la fermentation normale était mesurée pendant une heure, puis le contenu de l'ampoule latérale (0,25 cc. d'acide monobromacétique neutralisé, en solution N/2.000) était renversé dans le récipient contenant environ 0,500 mg. de tissus frais et 2 cc. d'eau de mer artificielle bicarbonatée). L'inhibition, au cours de six expériences, a été en moyenne de 80 p. 100 pendant la première heure, et toujours de 100 p. 100 pendant la seconde heure d'action. On remarquera la masse extrêmement faible de corps actif, le poids moléculaire de l'acide monobromacétique étant de 139 grammes; la quantité agissant sur 500 milligrammes de tissu frais, ou 80 milligrammes de tissu sec environ, est de 17 γ , soit la cinq millième partie de la masse sèche de tissu. Une pareille action ne peut s'expliquer que par une combinaison spécifique de la substance active avec le ferment attaquant les glucides. La masse du ferment attaquant les glucides est d'ailleurs sans doute bien inférieure à la cinq millième partie du poids sec de la cellule.

Les résultats que nous avons donnés dans le paragraphe 2 sont des dégagements de CO_2 produits en anaérobiose. Si nous admettons que la fermentation qui prend naissance consiste en une formation d'acide lactique (nous en donnerons la preuve chimique plus loin), il nous faut tenir compte d'une combinaison partielle de l'acide lactique avec les protéines des tissus : la totalité de l'acide lactique ne réagit pas, en effet, avec les bicarbonates de l'eau de mer; une partie reste dans les cellules; cette fraction peut être déterminée expérimentalement : si l'on mesure le volume de CO_2 qui se dégage d'une suspension de tissus en anaérobiose quand on y verse une quantité déterminée d'acide lactique, on constate que ce volume est inférieur au volume gazeux produit

par l'action de l'acide sur une solution de bicarbonate pure.
Le rapport :

$$\frac{\text{molécules d'acide lactique ajoutées}}{\text{molécules d'acide carbonique dégagées}}$$

ou ce qui revient au même, le rapport :

$$\frac{\text{Volume de CO}_2 \text{ correspondant théoriquement l'acide lactique}}{\text{Volume de CO}_2 \text{ réellement dégagé}}$$

se nomme coefficient de rétention chimique de l'acide lactique.

L'expérience a donné pour ce coefficient la valeur moyenne 1,16.

Nous passons des valeurs précédemment données $F_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2}$ mmc. de CO₂ dégagé par milligramme sec et heure,

$$\text{aux } F_L^{\text{N}_2}$$

acide lactique correspondant au CO₂ dégagé, compté en mm³. de CO₂, en multipliant par 1,16 :

$$F_L^{\text{N}_2} = 1,16 \cdot F_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2}$$

§ 5. — Résultats en fonction de l'âge et de la nature des tissus.

Le tableau XVIII porte les valeurs $F_L^{\text{N}_2}$ pour les divers tissus de l'Huitre pour des animaux de 12 à 15 mois et pour des animaux de 36 mois; ces volumes ont été calculés d'après les valeurs moyennes de $F_{\text{CO}_2}^{\text{N}_2}$, déduites des tableaux XVI et XVII. Le tableau porte également les valeurs moyennes de l'intensité respiratoire I_{O_2} mesurée sur les mêmes tissus des mêmes animaux.

De l'examen de ce tableau résulte immédiatement :

1° Les valeurs absolues des coefficients physiologiques

sont, dans tous les cas, plus faibles pour les tissus âgés que pour les tissus jeunes. La décroissance, quoique nette, est toutefois lente; elle est de 45 à 30 p. 100 pour la respiration, de 30 à 60 p. 100 pour la fermentation lactique;

TABLEAU XVIII
I_{O²} et F_L^{N²} des tissus d'Huitres en fonction de l'âge.

Valeurs moyennes.
T : 27°5.

AGE		MANTEAU	BRANCHIES	MUSCLE	H. PANCRÉAS
36 mois.....	I _{O²}	0,96	1,72	0,25	1,90
	F _L ^{N²}	0,34	0,69	0,17	0,81
	$\frac{I_{O^2}}{F_{L}^{N^2}}$	2,8	2,4	1,4	2,3
15 mois.....	I _{O²}	1,30	2,30	0,46	2,20
	F _L ^{N²}	0,63	1,62	0,34	1,13
	$\frac{I_{O^2}}{F_{L}^{N^2}}$	2,0	1,4	1,3	1,9

2° L'intensité de fermentation décroît toujours plus rapi-

dement que l'intensité respiratoire. Le rapport $\frac{I_{O^2}}{F_{L}^{N^2}}$ va en croissant des tissus jeunes aux tissus adultes. Sauf pour le muscle, où il paraît rester constant, il est de 20 à 60 p. 100

plus faible pour les tissus jeunes que pour les tissus adultes. Ces résultats peuvent être considérés comme assez bien établis : il suffit de parcourir les tableaux XVI et XVII pour se rendre compte que les chiffres sont nettement distincts dans les tissus d'âge différents; les moyennes ont une signification à 5 p. 100 près, ce qui nous permet d'accorder une signification physiologique réelle à toute différence supérieure à cet écart de 5 p. 100.

L'affaiblissement en valeur absolue des coefficients physiologiques, au cours du vieillissement de la cellule, est en soi un phénomène banal et de peu d'intérêt; il traduit seulement une surcharge de la cellule en matériaux de soutien, de remplissage ou de réserve. La diminution de l'intensité de fermentation, par rapport à l'intensité respiratoire, est un phénomène beaucoup plus intéressant, et qui semble présenter un degré très grand de généralité. Il a été découvert par O. WARBURG en 1924, en comparant les tissus embryonnaires et les tissus adultes des Vertébrés; c'est là que le phénomène est de beaucoup le plus net, car la cellule embryonnaire des Vertébrés supérieurs est un véritable ferment lactique, tandis que la fermentation lactique de la cellule adulte est de 20 à 50 fois plus faible que celle des cellules embryonnaires. Le phénomène a été retrouvé par L. GENEVOIS dans les tissus du Pois en germination et par DAVIS et SLATER dans le cas du Ver de terre. Il est intéressant de retrouver ce phénomène dans le cas d'un Invertébré marin à croissance très lente, et où visiblement la vie de la cellule est entièrement aérobie, en raison de la faible valeur absolue de l'intensité de fermentation.

Cette fermentation cellulaire anaérobie se produit exactement comme la respiration aux dépens des réserves propres des cellules. L'addition de glucose, de glycogène, n'augmente en aucune façon l'intensité du dégagement de gaz carbonique.

La fermentation lactique anaérobie et l'intensité respiratoire ont été déterminées par O. MEYERHOF et W. SCHULZ en 1929 sur les nerfs de divers Invertébrés, notamment divers Mollusques : *Apysia*, *Eledone*, *Octopus*, et un Crustacé,

Maja. A 15°, chez les Mollusques, I_{O_2} est compris entre 0,30 et 0,68, généralement voisin de 0,50; chez *Maja*, entre 0,78 et 1,35, généralement voisin de 1,0. Les $F_{CO_2}^{N_2}$ ont été mesurés chez *Maja* seulement; ils sont compris entre 0,59 et 0,91 voisins de 0,8 en général. Si l'on extrapole selon les lois connues, I_{O_2} serait, pour le nerf des Mollusques à 27°, voisin de 1,25; pour le nerf des *Maja*, voisin de 2,5; les $F_{CO_2}^{N_2}$ de *Maja* approcheraient de 1,7 à 2. Les chiffres trouvés par MEYERHOF et SCHULZ sont donc tout à fait du même ordre que les nôtres; pour eux également, les coefficients physiologiques sont les mêmes en milieu minéral et en milieu glucosé. Ces auteurs remarquent eux-mêmes que ces coefficients sont d'une puissance de 10 plus élevée que pour les mêmes tissus de Grenouille au repos et à même température, le muscle de Grenouille au repos a des intensités physiologiques beaucoup plus faibles également

$$\left(F_L^{N_2} \text{ de } 0,3 \text{ à } 0,4 \text{ à } 27^\circ \right);$$

les tissus des Vertébrés seraient caractérisés par la possibilité qu'ils ont de se mettre en état de repos physiologique et de pouvoir faire varier très brusquement leur métabolisme sous l'influence d'une excitation.

§ 6. — Essai d'isolement du ferment.

J'ai cherché à isoler le ferment producteur d'acide lactique en utilisant la méthode d'extraction donnée par O. MEYERHOF (1930) pour le muscle de Grenouille et de Lapin. Le muscle, après avoir été fortement refroidi (— 1°), est écrasé dans une solution de KCl isotonique; toujours à froid, on laisse digérer quelques instants le mélange et on le soumet ensuite à une très forte centrifugation. Celle-ci fournit un culot de tissus que surmonte une liqueur qui renferme l'enzyme dans le cas du Lapin et de la Grenouille.

Cette liqueur a été étudiée aussitôt la manipulation terminée. Placée en présence d'une solution de glycogène, elle ne nous a donné aucun dégagement de gaz carbonique. L'addition, au milieu d'une petite quantité de phosphate, n'a pas modifié les résultats. L'extraction du ferment lactique est une question très délicate; il est connu qu'elle se fait facilement chez certains animaux et que, pour les mêmes tissus d'animaux tout à fait voisins (par exemple le Rat), elle est impossible. Nos essais sur les quatre tissus ont toujours conduit à un résultat négatif. Etant donné la très remarquable indépendance de la cellule d'Huître vis-à-vis du milieu extérieur (indépendance de la respiration et de la fermentation vis-à-vis de l'addition de molécules aliments, glucides, acides aminés), ce résultat négatif n'a rien d'étrange. Nous verrons plus loin que les tissus d'Huître ont un pouvoir de rétention extrêmement élevé vis-à-vis de l'acide lactique lui-même.

II. — MESURES CHIMIQUES

Il existe aujourd'hui des méthodes très précises de dosage de faibles quantités d'acide lactique; grâce à elles, l'intensité de la fermentation a pu être mesurée dans un très grand nombre de cas. Nous avons pensé qu'à l'aide de l'une de ces méthodes, nous pourrions confirmer la nature de fermentation lactique du phénomène étudié.

Le muscle est le tissu que nous avons choisi, les autres tissus étant encore plus délicats que lui à manipuler pour ce genre d'expériences. Nous avons disposé les mesures de la façon suivante : les tissus à étudier étaient divisés en trois lots égaux. Le premier lot était immédiatement traité pour la recherche de l'acide lactique. Le second était séparé en plusieurs portions et placé dans les récipients manométriques; on étudiait la fermentation pendant trois heures; après ce laps de temps, on déterminait chimiquement l'acide formé. Le dernier lot était additionné d'une quantité d'acide lactique correspondante à celle que faisait présumer le volume de CO_2 que donnait le deuxième lot pendant les

trois heures d'anaérobiose; après agitation durant quelques minutes, les tissus étaient soumis au même traitement que ceux du premier lot.

§ 1. — Dosage de l'acide lactique (K. LOHMANN).

La méthode de dosage que nous avons employée est une méthode par oxydation; elle consiste à faire passer l'acide lactique sous forme d'aldéhyde éthylique, corps que l'on dose par l'intermédiaire de sa combinaison avec le bisulfite de sodium. Ce dosage s'effectue sur le milieu de fermentation après défécation. Nous reviendrons tout à l'heure sur ce premier temps, voyons, pour l'instant, le dosage proprement dit de l'acide lactique, emprunté à K. LOHMANN (1928).

Méthode. — L'oxydation de l'acide lactique est assurée par le permanganate de potassium, en milieu sulfurique, à l'ébullition. L'aldéhyde formé, entraîné par distillation, est recueilli dans une solution de bisulfite de sodium. Par une solution titrée d'iode, on dose, la distillation terminée, le bisulfite libre. Après addition de CO^3HNa une nouvelle fraction de bisulfite sera libérée; elle représente le bisulfite combiné à l'aldéhyde. On dosera donc ce bisulfite qui nous donnera l'acide lactique correspondant.

Appareil. — Le ballon de distillation que nous avons utilisé était un ballon de KJELDAHL, en Pyrex, fermé par un bouchon de caoutchouc laissant passer un tube à entonnoir à robinet et un tube servant au passage du distillat. Le permanganate était versé dans l'entonnoir. Après avoir traversé le réfrigérant vertical, le liquide de distillation était reçu dans un flacon laveur contenant le bisulfite de soude.

Réactifs :

$\text{SO}^4\text{H}^2 \text{ N}$.

MnO^4K N/10 (à diluer au moment de l'emploi à N/500).

SO^3HNa N/10.

I N/10 (à diluer à N/100 et à N/200).

CO^3HNa .

Empois d'amidon préparé avec une solution saturée de KCl.

Eau bidistillée dans un appareil de Pyrex (pour éviter les erreurs signalées par M. MEYERHOF).

Manipulation. — Pour que la détermination s'effectue dans de bonnes conditions, il faut que le liquide à examiner (30 cc. au maximum) renferme de 0,4 mg. à 2 milligrammes d'acide lactique. La concentration optima est 1 milligramme dans 25 cc. On ajoute à la liqueur $\text{SO}_4\text{H}_2\text{N}$ de façon à avoir une solution N/20 sulfurique. On met un peu de talc dans le Pyrex pour régulariser l'ébullition. Le flacon laveur reçoit 2 cc. de SO_3HNa N/10 et 25 cc. d'eau distillée.

Lorsque tout l'air a été chassé de l'appareil, on oxyde en laissant tomber goutte à goutte MnO_4K N/500 dans la solution bouillante d'acide lactique. Le permanganate doit se décolorer au fur et à mesure qu'il tombe dans cette solution. On règle la distillation de manière à maintenir le niveau constant dans le ballon. Toute l'opération doit se poursuivre à concentrations constantes en SO_4H_2 et en MnO_4K . La fin de l'oxydation est rendue visible par l'apparition, dans le ballon de distillation, d'une coloration brune. On poursuit la distillation encore une dizaine de minutes. On retire le flacon laveur renfermant le bisulfite et on laisse bouillir une minute pour laver la colonne à distiller et on arrête.

La solution de bisulfite est acide. En milieu acide, la combinaison bisulfite aldéhyde est stable; en milieu alcalin, elle est instable. On commencera par titrer très exactement avec une solution I N/100 la solution acide de SO_3HNa ; résultat : bisulfite libre. On ajoute ensuite 1 gramme CO_3HNa très pur; on titre à nouveau avec I N/200. Cette seconde donnée correspond à l'aldéhyde combiné au bisulfite et fournit par conséquent l'acide lactique.

1 cc. I N/200 correspond à 0,225 mg. acide lactique.

Nous avons déterminé, en utilisant des solutions de lactate de zinc pur, le facteur de correction à appliquer pour chaque dosage d'acide lactique. Quand nous faisons la manipulation avec une certaine quantité d'acide lactique, le chiffre trouvé devait être multiplié par 1,4 pour obtenir celui dont nous étions parti.

§ 2. — Dégénération des liquides.

Le milieu dans lequel on recherche l'acide lactique doit subir avant la distillation une préparation spéciale : il faut se débarrasser des substances étrangères, gênantes dans le dosage et pouvant fausser les résultats par la présence de corps susceptibles de donner par oxydation de l'aldéhyde. Pour cela, nous avons utilisé les méthodes suivantes :

1° a) Les tissus refroidis à 0° étaient écrasés dans HCl à 2 p. 100 (2 cc. par gramme de tissu). On laissait reposer dix minutes. Puis on ajoutait HgCl_2 à 5 p. 100; on laissait reposer dix minutes, on décantait et on filtrait une partie aliquote du liquide. Le mercure était précipité par H_2S ; on débarrassait la liqueur de l'hydrogène sulfuré par un courant d'air. Le liquide obtenu ne devait plus renfermer d'albumine : on le vérifiait par l'acide trichloracétique.

b) Ensuite on enlevait les glucides par le mélange : SO_4Cu , $5\text{H}_2\text{O}$ à 10 p. 100 et $\text{Ca}(\text{OH})_2$ à 10 p. 100, en employant pour 10 cc. de liqueur 5 cc. de suspension de chaux et 3 cc. de sulfate de cuivre.

2° Nous avons aussi fait la désalbumination par le tungstate de soude en milieu sulfurique, l'extraction des glucides se faisait encore par SO_4Cu et $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

3° Après avoir employé ces diverses méthodes, nous nous sommes arrêté au procédé utilisé par O. WARBURG (Métabolisme des tumeurs) qui consiste dans l'extraction de l'acide lactique du milieu de fermentation de la façon suivante :

La désalbumination se fait toujours par le sublimé. La liqueur, débarrassée de H_2S , est saturée de sulfate d'ammoniaque et on y ajoute 10 p. 100 de SO_4H_2 à 50 p. 100. On agite alors le liquide, dans un entonnoir agitateur, avec 8 fois son volume d'éther (cet éther très pur est agité auparavant avec une solution de soude caustique). L'éther est versé dans un second entonnoir agitateur où il est agité en présence de soude $n/10$. On recommence l'épuisement par l'éther 7 ou 8 fois et chaque fois on agite cet éther avec la solution alcaline. L'acide lactique donne ainsi du lactate de soude. On neutralise cette solution alcaline avec de l'acide sulfurique et par évaporation au bain-marie on concentre pour réduire à un volume convenable. La liqueur est prête pour le dosage.

§ 3. — Rétention physiologique de l'acide lactique.

Les dosages chimiques d'acide lactique dans les divers tissus de l'Huitre m'ont mis en présence d'un fait très constant et assez étrange au premier abord; si l'on ajoute de l'acide lactique à une certaine quantité de tissu refroidi à 0°, c'est-à-dire se trouvant au minimum d'activité physiologique, et que l'on fasse l'extraction aussitôt après, par les procédés qui réussissent parfaitement pour le muscle des Vertébrés, on ne retrouve qu'une faible partie de l'acide lactique, comprise entre le cinquième et le dixième; je propose de nommer cet effet la « rétention physiologique » de l'acide lactique; en effet, nous avons vu que l'acide lactique, ajouté *in vitro* à 27° à une suspension de tissu, déplace une quantité de CO₂ qui est un peu plus faible que la quantité qui correspondrait à celle libérée par l'acide dans une solution de bicarbonate pure. L'acide introduit est donc transformé en lactate; mais ce lactate ne reste pas libre en solution; si l'on recherche chimiquement le lactate introduit, on n'en retrouve qu'une très faible partie, comme si le reste avait été absorbé par les tissus, d'une manière telle que l'acide chlorhydrique ne puisse plus le déplacer.

La rétention physiologique est donc définie par le rapport :

$$\frac{\text{acide lactique ajouté au tissu}}{\text{acide lactique retrouvé chimiquement}}$$

elle est comprise entre 5 et 11; le tableau XIX ne reproduit qu'un petit nombre des mesures faites, celles où toute erreur de manipulation a été à coup sûr évitée, et où l'extraction a été parfaite. Les diverses méthodes d'extraction et de séparation de l'acide lactique, employées au cours des étés 1930 et 1931, nous ont donné les mêmes résultats.

TABLEAU XIX
Rétention physiologique de l'acide lactique dans les tissus d'Huitres
(Muscle).

Poids sec.	Teneur initiale.	Acide ajouté.	Acide total trouvé.	Coefficient de rétention.
	mg.	mg.	mg.	
1 gramme....	0,18	1,95	0,38	9,7
1 "	0,25	2	0,59	5,8
1 "	0,21	2,10	0,31	10,5

TABLEAU XX

Acide lactique dosé manométriquement et chimiquement.

POIDS SEC	ACIDE déterminé au manomètre	ACIDE dosé chimiquement		COEFFICIENT de rétention physiolo- gique	ACIDE réel d'après les dosages chimiques
		Teneur initiale	Teneur finale		
1 gramme.	1 mg. 95	0 mg. 18	0 mg. 50	9,7	3 mg. 10
1 gramme.	2 mg.	0 mg. 25	0 mg. 72	5,8	2 mg. 72
1 gramme.	2 mg. 10	0 mg. 11	0 mg. 35	10,5	2 mg. 52

Si maintenant l'on compare :

le dosage manométrique de l'acide lactique formé en anaérobiose en tenant compte de la rétention chimique;

le dosage chimique de l'acide lactique formé dans *les mêmes échantillons de tissus*, sur lesquels on a fait la mesure manométrique, en tenant compte de la rétention physiologique précédemment définie;

on constate, ainsi que le montre le tableau XX, qu'il y a concordance approximative, au moins comme ordre de grandeur, entre l'acide lactique déterminé par ces deux méthodes. En fait, l'acide lactique dosé chimiquement et multiplié par le coefficient de « rétention physiologique » de l'acide lactique se trouve toujours sensiblement supérieur à l'acide lactique dosé manométriquement. Les causes d'erreur dans les deux méthodes sont tellement nombreuses que l'on ne peut s'étonner d'une concordance si médiocre. Il a fallu vingt ans de recherches aux biochimistes pour mettre au point une bonne technique de dosage de l'acide lactique dans le muscle des Vertébrés. Je me bornerai à accorder à mes résultats une valeur qualitative, déjà intéressante; les tissus de l'Huître possèdent en anaérobiose une fermentation lactique, faible, mais nette. L'acide lactique formé, quoique réagissant comme acide, est partiellement retenu par les tissus au même titre que l'acide lactique ajouté.

§ 4. — Anaérobiose des Vertébrés et des Invertébrés.

COMPARAISON ENTRE LES TISSUS DE GRENOUILLE ET LES TISSUS DE L'HUITRE.

Dans le muscle de Grenouille, il se forme, d'après O. MEYERHOF, en anaérobiose, à 15°, de 0,5 à 0,7 mg. d'acide lactique par gramme sec et par heure; ceci représente à 27°5, 1,5 à 2,1 mg. d'acide lactique par gramme sec et par heure. Les quantités maxima d'acide lactique qui peuvent se former dans le muscle sont beaucoup plus élevées jusqu'à 20 milligrammes par gramme sec dans le muscle isolé et plus du double si le muscle est dans une solution de bicarbonate sec, mieux de phosphate alcalin, plus du triple s'il reçoit du glucose ou du glycogène. Dans le muscle haché suspendu dans une solution de phosphate alcalin, on obtient 20 fois plus d'acide lactique par heure, c'est-à-dire 30 milligrammes à 27°5.

Dans nos tissus d'Huitre, on trouve, en prenant pour base de calcul les valeurs de F déterminées par déplacement d'acide carbonique; 1 mg. 2 par gramme sec-heure pour le manteau, 2,6 pour les branchies, 0,6 pour le muscle, 2,8 pour l'hépatopancréas, et cela pour des Huitres de 3 ans. Pour des animaux très jeunes, ces chiffres sont approximativement doublés. La formation d'acide lactique est donc du même ordre de grandeur dans le muscle de Grenouille intact, au repos, en anaérobiose, et les tissus des Huitres; le tissu musculaire se fait par contre remarquer par sa faiblesse d'intensité de fermentation.

L'intensité respiratoire du muscle de Grenouille est de l'ordre de 0,15 à 20°, soit 0,30 à 27°, sans addition de lactate, l'addition de lactate fait plus que doubler ces chiffres; elle les porte à 0,60-0,75 à 27° sur le muscle *intact*. O. MEYERHOF donne, pour le muscle haché en solution neutre de phosphates, un Io^2 de 1 à 15° et 1,5 à 2 à la température de 22°; nous pouvons admettre 2 à 3 à 27°. Les Io^2 se trouvent donc du même ordre pour le muscle haché de Grenouille et pour les tissus intacts d'Invertébrés.

Nous saisissons, dans ces conditions, les différences essentielles entre la cellule d'Invertébrés et de Vertébrés : la cellule des Huîtres est un système essentiellement *stable*; ni la section, ni l'addition de substances chimiques, ne modifient sensiblement son métabolisme. La cellule des Vertébrés, surtout la cellule musculaire, est un système essentiellement instable; son métabolisme de repos est plus faible que celui des cellules d'Huître, mais pour une excitation physiologique, chimique (caféine), alimentaire (lactate) ou mécanique (traumatisme), le métabolisme de fermentation peut atteindre 20 ou 30 fois sa valeur initiale, le métabolisme de respiration 10 fois sa valeur initiale.

Ces faits ne sont que la traduction chimique de la lenteur de réaction des Mollusques, opposée aux réactions très rapides des Vertébrés.

La lenteur de vie du Mollusque tient non à la faiblesse intrinsèque du métabolisme, mais à son *inaptitude* à réagir aux excitants, à son *invariabilité physiologique*. L'intensité respiratoire des tissus du Mollusque au repos est plus grande que celle des tissus au repos de Grenouille; dans l'activité l'ordre est inversé. Enfin, le tissu des Mollusques est essentiellement un tissu aérobie : l'intensité respiratoire y est toujours plus élevée que l'intensité de fermentation; $\frac{I}{F}$ y est supérieur à 1; il n'apparaît donc jamais de fermentation aérobie. La quantité de glucides détruite par la fermentation est dans le cas du manteau et de l'hépatopancréas, à peu près la même que la quantité de glucides qui serait nécessaire pour alimenter la respiration. Dans le cas du muscle et de la branchie, elle paraît plus élevée, de sorte que l'on peut admettre l'existence de la réaction de PASTEUR-MEYERHOF; mais il faut bien reconnaître que l'existence de ce phénomène ne s'impose pas.

Ainsi, c'est dans le chimisme des tissus, dans la répartition des propriétés des ferments des cellules, qu'il faut chercher l'origine des différences des êtres vivants. Seule une étude approfondie du mécanisme des ferments cellulaires nous fera connaître quelque chose de la vie cellulaire.

CONCLUSIONS

Le métabolisme cellulaire des tissus de l'Huître possède une série de caractères communs au métabolisme cellulaire en général, et d'autre part, une série de caractères bien particuliers.

1° CARACTÈRES GÉNÉRAUX.

Une respiration d'intensité normale, une fermentation lactique anaérobie faible, mais parfaitement définie; la fermentation n'apparaît pas en présence d'air. La quantité de glucides fermentée en anaérobiose est plus élevée que la quantité de glucides susceptibles d'être détruite par la respiration; il y a donc lieu de penser que la réaction de PASTEUR-MEYERHOF joue dans ces tissus comme elle joue dans le cas des Vertébrés. Le rapport :

$$\frac{I_{O^2}}{F_L^{N^2}}$$

est toujours plus grand que 1; il va en croissant au fur et à mesure que les animaux vieillissent, alors que les valeurs absolues des deux coefficients vont en décroissant quand l'âge des animaux croît : ces deux derniers caractères semblent communs à peu près à tous les tissus animaux et végétaux.

Les cellules de l'Huître se comportent donc comme les cellules de tous les autres organismes aérobies à croissance lente.

Au point de vue pharmacologique, la respiration est inhibée par KCN, la fermentation lactique par l'acide monobromacétique à N/10.000, caractères communs avec les autres cellules animales et végétales.

2° CARACTÈRES PARTICULIERS.

Les cellules de l'Huître présentent une extraordinaire indifférence vis-à-vis des molécules aliments qu'elles sont, sans doute, susceptibles d'attaquer : ni les divers acides aminés, ni les divers sucres, ni l'acide lactique, ne sont susceptibles d'élever l'intensité respiratoire; les glucides n'augmentent pas non plus l'intensité de fermentation lactique de ces tissus. Ce caractère, d'ailleurs secondaire, semble distinguer nettement la cellule d'Invertébrés de la cellule des Vertébrés : aussi bien chez les hématies du Siponcle que chez l'Huître, nous avons la même indifférence, tandis que les cellules de Grenouille ou de Mammifère réagissent très fortement à l'addition d'acide lactique ou de glucides.

Ce fait pourrait s'interpréter d'une manière assez simple, en admettant que les ferments cellulaires des Invertébrés soient constamment saturés de molécules aliments. Il faut pour cela admettre que la cellule accumule d'abondantes réserves, de glucides et autres substances aliments; la richesse en glycogène de ces tissus — les tissus de Moule sont, comme on le sait, une source classique, quasi industrielle de glycogène — confirme que cette hypothèse correspond bien à la réalité.

Mais en cherchant à doser chimiquement l'acide lactique contenu dans les tissus suivant les diverses techniques mises au point sur les tissus des Vertébrés, j'ai trouvé un fait nouveau assez inattendu : lorsque l'on ajoute de l'acide lactique à un tissu d'Huître, cet acide est fixé par les tissus d'une manière telle qu'il n'est plus possible de l'extraire par épuisement du tissu par une solution étendue d'acide chlorhydrique, ou du moins l'extraction livre de un dixième à un cinquième tout au plus de l'acide introduit; il y a là un phénomène que j'ai nommé « rétention physiologique » de

l'acide lactique; si ce phénomène est général, il permettrait aux cellules des tissus de se nourrir aux dépens des molécules dissoutes dans l'eau de mer. En tout cas, ce phénomène porte aussi sur l'acide lactique formé par fermentation propre du tissu en anaérobiose. Il y aurait là un fait que l'on peut s'imaginer jouer un rôle assez important chez les Invertébrés.

BIBLIOGRAPHIE

1. ASHBEL. — *Bolletino del Soc. It. die Biol. sperim.*, 4, n° 4, 1929 (cité d'après RAPKINE).
2. AUBEL et GENEVOIS. — Etat actuel de la question des ferments. Paris, Gauthier-Villars, 1929.
3. BARRENSCHEEN (H. K.) et KARL BRAUN. — Untersuchungen über die glykolyse des Blutes. Die Hemmung der Glycolyse. *Biochemische Zeitschrift*, 234, 144-172, 1930.
- 3 a. BARRENSCHEEN (H. K.), KARL BRAUN, MICKLOS DIEGUN. — Glykolyse hemmung und Methylglyoxalanhäufung. *Ibid.*, 252, 163-180, 1930.
4. BOUXIN (H.). — Influence des variations rapides de la salinité sur la consommation d'oxygène chez *Mytilus edulis*. *Bull. Inst. océanographique*, n° 569, 1931.
5. BRUCE. — The respiratory exchange of the mussel (*Mytilus edulis*). *Biochem. Journ.*, Cambridge, 20, 829-846, 1926.
6. CAYROL et GENEVOIS. — Inhibition spécifique de la fermentation, sans inhibition, ni de la respiration, ni de la croissance, ni de la réaction de Pasteur-Meyerhof. *C. R. Acad. Sc.*, 192, 1494, 1931.
7. CAYROL. — Action de divers dérivés halogénés sur la fermentation alcoolique. *C. R. Acad. Sc.*, 193, 446, 1931.
8. CHAPHEAU. — Sur la respiration des hématies du Siponcle. *Bull. St. biol. Arcachon*, 25, 157, 1938.
9. — Action de l'iode libre sur les hématies du Siponcle et les tissus de l'Huitre. *Ibid.*, 27, 7-18, 1930.
10. — Action des colorants vitaux sur la respiration des hématies du Siponcle. *Ibid.*, 27, 29-35, 1930.
11. — Sur la respiration des hématies du Siponcle. *Ibid.*, 27, 210, 1930.
12. DAVIS et SLATER. — The anaerobic metabolism of the earthworm (*Lumbricus terrestris*). *Bioch. J.*, 22, 338, 1928.
13. — The aerobic and anaerobic metabolism of the common Cockroach (*Periplaneta Orientalis*). *Bioch. J.*, 20, 1167, 1926, et 22, 234, 1928.
14. FISCHER (P.-H.). — Recherches sur la vie ralentie de l'Escargot. Thèse Paris, 1931.
16. GENEVOIS. — Sur la respiration et la fermentation chez les végétaux Chlorophylliens. *Rev. gén. de botanique*, 40, 53, 1928.
17. — Coloration vitale et respiration. *Protoplasma*, 5, 67, 1928.

18. — Recherches sur la respiration des Entéromorphes. *Bull. St. biol. Arcachon*, **25**, 137, 1928.
19. — Sur la fermentation et la respiration dans les tissus du Pois. *C. R. Acad. Sc.*, **188**, 1338, 1929.
20. — Métabolisme et fonctions des Cellules. Paris, Masson, 1931.
21. GENEVOIS et NICOLAÏEFF. — Inhibition de la fermentation lactique bactérienne par les acides aliphatiques halogénés en α . *C. R. Acad. Sc.*, **194**, 1270, 1932.
22. JOLYET et REGNARD. — Recherches sur la respiration. *Archives de physiologie*, 1878.
23. KREBS. — Über die Wirkung der Monoiodessigsäure auf den Zellstoffwechsel. *Biochemische Z.*, **234**, 278, 1931.
24. LEGENDRE (R.). — La concentration en ions hydrogènes de l'eau de mer. *Presses Universitaires*, Paris, 206-207, 1925.
25. LOHMANN. — Chemische Bestimmung der Glykolyse. *Oppenheimer Pincussen, die Methodik der Fermente*, p. 1233.
26. LUNDGAARD (Einar). — Muskelkontraktionen ohne Milchsäurebildung. *Biochemische Z.*, **217**, 162, 1930.
27. — Die Monoiodessigsäurewirkung auf die enzymatische Kohlenhydratspaltung. *Ibid.*, **220**, 1-7, 1930.
28. — Weitere Untersuchungen über Muskelkontraktionen ohne Milchsäurebildung. *Ibid.*, **227**, 51-83, 1930.
29. MEYERHOF (O.) et W. SCHULZ. — Ueber die Atmung des marklosen Nerven. *Biochemische Z.*, **206**, 158, 1929.
30. MEYERHOF (O.). — Die chemische Vorgänge im Muskel. Berlin, Springer, 1930.
31. NICLOUX (M.). — Le dosage de l'oxygène dissous dans l'eau de mer. *Bull. Inst. océanographique*, n° 363.
32. — Dosage de l'oxygène dissous. *Bull. Soc. chimie biol.*, **13**, 1931.
33. PERLZWEIG et BARON. — Lactic acid and Carbohydrate in Sea Urchin eggs under aerobic and anaerobic Conditions. *J. Biol. Chem.*, **79**, 19, 1928.
34. RAPKINE. — Sur les processus chimiques au cours de la division cellulaire. *Annales de physiologie*, **7**, 382, 1931.
35. RIOUX. — Contribution à l'étude de l'acide lactique du sang. Thèse de médecine Bordeaux, 1931.
36. RUNNSTRÖM (John). — Atmungsmechanismus und Entwicklungserregung bei dem Seeigel. *Protoplasma*, **10**, 106-172, 1930.
37. — *Arkiv för Zoologi.*, **21**, 1, 1930. (Cité d'après RAPKINE.)
38. SCHWARTZ et OSCHMANN. — Le taux de l'acide lactique musculaire dans les contractures des animaux empoisonnés par l'acide monobromacétique. *C. R. Soc. biol.*, **92**, 169, 1925.
39. WARBURG (O.). — Métabolisme cellulaire et métabolisme des tumeurs. (Traduction AUBEL et GENEVOIS, Paris, Alcan, 1928.)
40. WURMSER (R.). — Oxydations et réductions. Paris, Presses Universitaires, 1930.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ :

La structure des sucres d'après les travaux récents.

Vu :
Le Président,
RICHARD.

Vu :
Le Doyen,
G. DUPONT.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 9 mai 1932.

Pour le Recteur :
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,
G. DUPONT.

